

Aus der Kinderklinik der Freien Universität Berlin
(Kaiserin-Auguste-Viktoria-Haus)
Direktor: Professor Dr. H. Helge

Phototherapie und Sulfonamid- behandlung infantiler Gunn-Ratten

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Harm Dietz Krisponeit
aus Bremen

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548818_0092

Aus der Kinderklinik der Freien Universität Berlin
(Kaiserin-Auguste-Viktoria-Haus)
Direktor: Professor Dr. H. Helge

Phototherapie und Sulfonamid- behandlung infantiler Gunn-Ratten

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Harm Dietz Krisponeit
aus Bremen

Referent: Professor Dr. med. L. Ballowitz

Korreferent: Professor Dr. med. H. Dietbrock



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 25.2.1976

INHALTSÜBERSICHT

I.	EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	S. 5
II.	DIE GUNN-RATTE	S. 7
III.	PROVOKATION EINES KERNIKTERUS DURCH SULFONAMIDE	S. 10
IV.	DIE PHOTOTHERAPIE FRÜH- UND NEU- GEBORENER MENSCHEN UND HOMO- ZYGOTER GUNN-RATTEN	S. 17
V.	PHYSIKOCHEMISMUS UND METABOLISMUS DES BILIRUBINS UNTER DEM EINFLUSS DER PHOTOTHERAPIE	S. 27
VI.	METHODEN	S. 33
VII.	ERGEBNISSE	S. 38
VIII.	DISKUSSION	S. 59
IX.	ZUSAMMENFASSUNG	S. 74
X.	LITERATURVERZEICHNIS	S. 77

I. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Mit der Phototherapie steht seit 1958 ein inzwischen vielgeübtes Verfahren zur Behandlung der Neugeborenenhyperbilirubinämie zur Verfügung. CREMER und Mitarbeiter (20) hatten in vitro mit spektrophotometrischen Methoden eine hochgradige Photosensibilität des Bilirubins beobachtet, die zu einer oxydativen Dekomposition des Farbstoffes zu wasserlöslichen Komponenten führt. Diese Eigenschaft des Pigmentes veranlaßte die Autoren, hyperbilirubinämische Früh- und Neugeborene mit Sonnenlicht oder blauen Leuchtstofflampen zu bestrahlen. Mit einer Ausnahme wurde so in allen Fällen die Serumbilirubinkonzentration beträchtlich gesenkt. Eine große Anzahl von Untersuchern hat seither die Wirkung der Phototherapie der Hyperbilirubinämie studiert und ihre praktische Anwendbarkeit zur Behandlung Früh- und Neugeborener bestätigt. Die Gefahr eines Kernikterus ist jedoch keineswegs allein vom Ausmaß der Hyperbilirubinämie abhängig; so werden von manchen Neugeborenen Serum-bilirubinkonzentrationen von über 30 mg/100 ml anscheinend schadlos überstanden, während in anderen Fällen bereits Konzentrationen von weniger als 20 mg/100 ml deletäre Folgen haben. Die wichtigsten Faktoren, welche das Risiko der Hyperbilirubinämie erhöhen, sind: Unreife, Asphyxie, Azidose, Hunger, Vermehrung freier Fettsäuren, Hämolyse, Kältestress, Hypalbuminämie, Hypoglykämie, Infektionen sowie gewisse Medikamente (Salizylate, Benzoate, Sulfonamide). Das Problem des sulfonamidinduzierten Kernikterus wurde erstmals von SILVERMAN und Mitarbeitern (75, 76) beschrieben, die bei mit Sulfisoxazol (Gantrisin^R), einem Kurzzeitsulfonamid, behandelten Frühgeborenen eine signifikant höhere Kernikterusrate fanden als bei solchen, die Oxytetracyclin (Terramycin^R) erhalten hatten. Seitdem sind Sulfonamide, besonders Sulfadimethoxin (Madribon^R), wiederholt zur experimentellen Erzeugung eines Kernikterus bei der Gunn-Ratte verwendet worden.

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, wieweit die Anwendung der Phototherapie bei hyperbilirubinämischen infantilen Gunn-Ratten, welche aufgrund eines genetisch fixierten Enzymmangels besonders gefährdet sind, geeignet ist, die

Risiken einer Sulfonamidmedikation zu verringern.

Weiterhin wird geprüft, ob durch die Bestrahlung photodynamische Reaktionen hervorgerufen werden. Diese Frage ist von Bedeutung, da Sulfonamide bereits bei normaler Lichtexposition als photochemische Sensibilisatoren wirken und Photoallergien verursachen können (18, 23, 85). Ebenfalls spielen photodynamische Reaktionen bei dem von KOPELMAN und Mitarbeitern (40, 41) als Komplikation der Phototherapie beschriebenen "Bronzebabysyndrom" eine Rolle.

II. DIE GUNN-RATTE

Unsere Untersuchungen führten wir an homozygoten Gunn-Ratten durch. Diese Tiere gelten als Versuchsobjekte par excellence zum Studium der Neugeborenenhyperbilirubinämie, da sie aufgrund eines genetisch fixierten Enzymmangels zeitlebens an Hyperbilirubinämie leiden.

Der Gunn-Rattenstamm, der erstmalig von GUNN (28) beschrieben wurde, entstand 1934 in den Connaught-Laboratorien, Toronto, Kanada, als Mutante einer Wistar-Rattenkolonie.

Die Hyperbilirubinämie wird durch einen rezessiv vererbten Mangel an Glukuronyltransferase hervorgerufen. CARBONE und GRODSKY (19), SCHMID und Mitarbeiter (69) sowie ARIAS (1, 2) fanden eine im Vergleich zu normalen Ratten deutlich verringerte Enzymaktivität der Leber. Die Uridindiphosphatglukuronyltransferase (UDPGT) katalysiert die Konjugation indirekten, lipidlöslichen Bilirubins mit aktivierter Glukuronsäure (UDPGS) zu Bilirubindiglukuronid und Bilirubinmonoglukuronid. Das durch die Koppelung wasserlöslich gewordene Bilirubin kann von der Leberzelle aktiv in die Gallenkapillare ausgeschieden werden. Es ist nicht klar, ob durch den Enzymmangel auch die Glukuronidierung und Elimination der von uns untersuchten Medikamente behindert ist, denn offenbar gibt es verschiedene Glukuronyltransferasen unterschiedlicher Substratspezifität. So sind Gunn-Ratten z. B. in der Lage, stickstoffgebundene Glukuronide zu bilden (1).

Homozygote (jj) Neugeborene heterozygoter (Jj) Mütter - solche Tiere wurden von uns verwendet - weisen zum Zeitpunkt der Geburt noch keine Hyperbilirubinämie auf. Dieser Befund weist neben anderen auf die Plazentagängigkeit des Bilirubins hin. In der 2. Lebensstunde beträgt die Serumbilirubinkonzentration aber schon etwa 2 mg/100 ml, und nach 12 Stunden wird ein Wert von ca. 6 mg/100 ml gemessen. Nachdem die durchschnittliche Bilirubin-

konzentration etwa am 16. Tag mit 11,5 mg/100 ml ein Maximum erreicht hat, fällt sie bis etwa zum 30. Tag auf einen konstanten Wert um 6 mg/100 ml ab. Die vorübergehende Anämie der Jungratten ist bei homozygoten und heterozygoten Tieren gleich stark ausgeprägt. Unter den erwachsenen Tieren hingegen sind nur die homozygoten anämisch. Da kein umgekehrtes Verhältnis zwischen Hämatokrit und Bilirubinämie besteht, kann dieses Phänomen nicht auf Hämolyse zurückgeführt werden (35, 36).

Bereits wenige Stunden nach der Geburt können die homozygoten Tiere von heterozygoten, die keine Hyperbilirubinämie entwickeln, unterschieden werden: die Haut, aber besonders die Ohren und bei älteren Tieren der Schwanz, weisen eine gelbe Tingierung auf.

Die zum Zeitpunkt der Geburt noch sehr unreifen homozygoten Ratten wiegen durchschnittlich nur etwa 6 g. Ihr Gang ähnelt anfangs Schwimmbewegungen, ist nach einer Woche schwankend und nach drei Wochen geübt. Die Fellentwicklung beginnt nach einer Woche und ist nach zwei Wochen abgeschlossen; die Augen werden gewöhnlich nach knapp zwei Wochen geöffnet. Das zunächst nur sehr schwach ausgebildete subkutane Fettgewebe ist nach etwa 15 Tagen in beträchtlichem Maße vorhanden. Das anfängliche Fehlen des Fettgewebes begünstigt sicherlich auch die Entwicklung eines Kernikterus in den ersten Lebenswochen. Die Gestationsdauer und die Säugeperiode betragen jeweils 3 Wochen. Mit drei Monaten haben die Tiere die sexuelle Reife erlangt und gelten als erwachsen. Die Serumproteinkonzentration, die zum Zeitpunkt der Geburt durchschnittlich bei nur 2,3 g/100 ml liegt, beträgt nach 7 Tagen 3,3, nach zwei Wochen 4,7, nach 3 Wochen 5,4 und nach drei Monaten 6,9 g/100 ml (35). Mehr als 60 % der homozygoten Gunn-Ratten entwickeln in den ersten drei Lebenswochen einen Kernikterus, der bei etwa der Hälfte dieser Tiere zum Tode führt. Die Überlebenden Ratten sind ungewöhnlich stark durch Hunger, Hitze, Kälte und Stress gefährdet. Inzidenz, Ausmaß neurologischer Störungen und Intensität der Kernverfärbungen stehen in einem direkten Verhältnis zum Grad der Hyperbilirubinämie. In den ersten beiden Lebens-

tagen werden weder neurologische noch histologische Abnormitäten gefunden; eine diffuse Gelbfärbung des Hirns ist allerdings häufig schon vorhanden. Lokalisierte Gelbfärbungen im Sinne eines Kernikterus werden frühestens am 4. bis 5. Tag gefunden. Betroffen sind in unterschiedlicher Häufigkeit Globus pallidus, Putamen, Nucleus caudatus, Thalamuskern, Bulbus und Tractus olfactorius, Hippocampus, der Kern des 8. Hirnnerven, Colliculus inferior, Cerebellum, graue Substanz des Rückenmarkes und gelegentlich der Cortex cerebri. Bei histologischen Untersuchungen zeigen die bilirubin-imbibierten Gewebe eine außergewöhnlich starke Kapillarisation. In den Ganglienzellen werden frühestens am 3. Tag neben geschwollenen Mitochondrien membranöse Körperchen gefunden, die später offenbar in lipofuszinähnliche Granula umgewandelt werden. Zelluntergänge, die sich besonders gut an den Purkinjezellen des Kleinhirns nachweisen lassen, werden vom 12. Lebenstag an beobachtet. Nach Ablauf eines Monats tritt ein Kernikterus nur noch in äußerst seltenen Fällen auf (71, 73).

Weiterhin finden sich bei den Gunn-Ratten pathologische Veränderungen des Gastrointestinaltraktes, interstitielle Nephritiden mit Ablagerungen erheblicher Mengen Bilirubins im Bereich der Papillenspitzen sowie pulmonale Hämorrhagien (35). Die klinischen Symptome einer Bilirubinenzephalopathie werden gewöhnlich zwischen 7. und 14. Lebenstag apparent, wenn die motorischen Funktionen so weit entwickelt sind, daß ein Defekt erkannt werden kann. Charakteristisch sind Ataxie, Lethargie, Hypotonie, Hyperaktivität, Lähmungen der Hinterbeine, Krämpfe und Opisthotonus (71).

III. PROVOKATION EINES KERNIKTERUS DURCH SULFONAMIDE

SILVERMAN et al. (76) haben 1956 erstmals auf die erhebliche Kernikterusgefährdung Frühgeborener nach Sulfonamidapplikation hingewiesen. 95 frühgeborenen Kindern war über 5 Tage 0,1 - 0,15 g/kg Körpergewicht/die Sulfisoxazol (Gantrisin^R) sowie 1 000 000 Einheiten Penizillin/die verabreicht worden; eine vergleichbare Kontrollgruppe von 97 Frühgeborenen hatte 0,01 g/kg Körpergewicht/die Oxytetracyclin (Terraamycin^R) erhalten. Nahezu 2/3 (n = 60) der sulfonamidbehandelten Kinder starben, während die Mortalität in der Oxytetracyclingroup nicht einmal halb so groß war (n = 27). Autopsisch wurde bei fast der Hälfte der nach Sulfonamidbehandlung gestorbenen Kinder ein Kernikterus gefunden. Der einzige in der Oxytetracyclingroup nachgewiesene Kernikterus hatte bereits während der Medikation zum Tode geführt. Serologische Untersuchungen an 85 Kindern dieser Studie bewiesen, daß mütterliche Iso-sensibilisierungen im Rh- oder ABO-Blutgruppensystem nicht für die Differenzen der Mortalität und der Inzidenz eines Kernikterus zwischen beiden antibakteriellen Behandlungsmethoden verantwortlich gemacht werden können. Ein Vergleich der Häufigkeit der Gelbfärbung umschriebener Hirnareale ergab bei den mit der Sulfonamid-Penicillin-Kombination behandelten Kindern mit Ausnahme des Bodens des 4. Ventrikels geringere Frequenzen als bei Fällen von Kernikterus erythroblastotischer Genese. Auch ZUELZER und MUDGETT (92) fanden beim erythroblastotischen Kernikterus einzelne Hirnareale häufiger involviert als beim nichterythroblastotischen. Die überlebenden Kinder beider Gruppen der Studie SILVERMANs wiesen im Alter von 2 Jahren gleichermaßen zu etwa einem Viertel neurologische Schäden auf. In der Neugeborenenperiode war bei den Kindern der Oxytetracyclingroup ein signifikant höherer Durchschnittswert der maximalen Serumbilirubinkonzentration ermittelt worden (75).

An Gunn-Ratten sind wiederholt Untersuchungen zum Problem der Bilirubinenzephalopathie nach Sulfonamidmedikation durchgeführt

worden. BLANC und JOHNSON (14) injizierten neugeborenen homozygoten Gunn-Ratten wiederholt Sulfisoxazol (Gantrisin^R) bzw. das Langzeitsulfonamid Madribon (Sulfadimethoxin^R). Sie beobachteten bei diesen Tieren bereits nach 4 Tagen ausgeprägte Grade von Kernikterus, wie sie sonst erst nach Ablauf von 2 Wochen gesehen werden. Die Gelbfärbung der Gehirne war außergewöhnlich intensiv. Neben der üblichen Lokalisation eines Kernikterus waren häufig auch Bulbus und Tractus olfactorius gefärbt. Das intrazelluläre Pigment wurde aufgrund seiner physikochemischen Eigenschaften als Bilirubin identifiziert. Die Därme der mit Madribon^R behandelten Tiere waren distal der Papilla duodeni VATERI intensiv gelb und bläßen auch nach monatelanger Fixation nicht ab - wahrscheinlich wegen extrazellulärer Ablagerung in Form kristalliner Präzipitate. Die Nieren zeigten an der Papillenspitze eine hellorange Färbung, die, wie die bei Erythroblastose beschriebenen "Bilirubinfarkte", durch interstitiell abgelagerte Bilirubinkristalle hervorgerufen wurde. Das klinisch-pathologische Syndrom des Kernikterus der Ratten ähnelte dem Syndrom des Kernikterus des Menschen weitestgehend.

Die Toxizität des Gantrisin^R wurde an Wistarratten untersucht, die nicht hyperbilirubinämisch sind. Die Tiere erhielten den ersten Lebensmonat hindurch 500 mg/kg Körpergewicht/die Gantrisin^R-Na oder bis zu 500 mg/kg Körpergewicht/die Gantrisin^R-Diäthanolamin. Hinsichtlich der Absterberate und des Gewichtszuwachses unterschieden sich diese Ratten nicht signifikant von unbehandelten Tieren. Auch die Lebern und die Pankreasinseln waren unauffällig. Eine Änderung der Permeabilität der "Blut-Hirnschranke" konnte nicht nachgewiesen werden.

Aus der Tatsache einer engen Korrelation zwischen Sulfonamidbehandlung, Absinken der Serumbilirubinkonzentration und Auftreten eines Kernikterus bei Gunn-Ratten wie bei frühgeborenen Kindern wurde geschlossen, daß Sulfonamide eine Verschiebung des Bilirubins aus vaskulären in andere Körperkompartimente bewirken.

JOHNSON et al. (36) reproduzierten die Ergebnisse SILVERMANs an jungen Gunn-Ratten mit Sulfadiazin-Na (nicht mehr im Handel), Sulfisoxazol-Na und Sulfisoxazol-Diäthanolamin (Gantrisin^R). Alle 12 mit Gantrisin^R in Dosen zwischen 100 und 500 mg/kg Körpergewicht/die behandelten homozygoten Tiere starben, während 4 von 6 Kontrolltieren, die keine Medikamente bekommen hatten, überlebten. Von den 24 Ratten, denen Sulfadiazin injiziert worden war, überlebte eine. In der entsprechenden Kontrollgruppe starben 4 von 9 Tieren. 42 heterozygote Gunn-Ratten und Wistar-Ratten vertrugen beide Medikamente in Dosen bis zu maximal 1000 mg/kg Körpergewicht/die über eine Woche schadlos.

Die mittlere Serumbilirubinkonzentration der behandelten moribunden homozygoten Tiere lag bei 6,9 mg/100 ml; die unbehandelten Tiere hingegen wiesen eine mittlere Konzentration von 12,8 mg/100 ml auf. Autoptisch erwies sich die Gelbfärbung behandelter Ratten nicht nur in der grauen Substanz des ZNS als besonders intensiv, sondern auch im Depotfett und im Bindegewebe. Die Därme von 5 innerhalb von 48 Stunden nach Madribon^R-Applikation gestorbenen Ratten waren unterhalb der Papilla duodeni VATERI ebenfalls intensiv gelb. Bei der histologischen Untersuchung wurden bilirubinähnliche Ablagerungen in der Lamina propria mucosae gefunden.

Auch die Serumbilirubinkonzentration erwachsener Ratten wurde durch Sulfonamide verringert. Haut, Ohren und Füße färbten sich stärker gelb. Neurologische Ausfälle traten jedoch auch nach zweiwöchiger Medikation nicht auf. Der Abfall des Bilirubinspiegels ging rasch vonstatten und stand in direktem Verhältnis zur Konzentration der Sulfonamide im Blut. Beim Gantrisin^R waren die Ausgangswerte nach etwa 24 Stunden, beim Madribon^R nach rund 100 Stunden wieder erreicht. In einer anderen Arbeit betonen JOHNSON et al. (35) die Bedeutung organischer Anionen für die Induktion eines Kernikterus. Für Sulfonamide ermittelten sie folgende Daten: 100 - 200 mg/kg Körpergewicht/die Sulfadimethoxin bewirken bei homozygoten Gunn-Ratten eine durchschnittliche Verringerung der Serumbilirubinkonzentration von 90 %, eine

Kernikterusinzidenz von 100 % und eine Kernikterusmortalität von 100 %. Die entsprechenden Werte für 200 - 300 mg Sulfisoxazol-Na/kg Körpergewicht/die sind: 50 %, 100 %, 78 %, und für 100 - 200 mg Sulfadiazin-Na/kg Körpergewicht/die: 30 %, 94 %, 94 %. Bei den Kontrolltieren lag die Kernikterusinzidenz bei 53 % und die Kernikterusmortalität bei 22 %.

Die Ergebnisse wurden entsprechend den Untersuchungen ODELLS (54, s.u.) mit einer Konkurrenz zwischen Sulfonamiden (und anderen Substanzen wie Coffein, Benzoaten, Salicylaten, Hämpigmenten) und dem Bilirubin um die Bindung am Albuminmolekül erklärt.

Da freies Bilirubin fettlöslich ist, verläßt es einem Konzentrationsgefälle folgend sehr rasch den Intravasalraum und kann seine toxische Wirkung an den Ganglienzellen entfalten. Unterstützt wird diese Auffassung auch durch die Tatsache, daß bei Gunn-Ratten durch Albumininjektionen eine Erhöhung der Serumbilirubinkonzentration hervorgerufen werden kann. Die neurologischen und morphologischen Veränderungen mit Sulfadimethoxin (Madribon^R) behandelter Gunn-Ratten wurden von SCHUTTA und JOHNSON (72) untersucht.

Die stärksten neurologischen Störungen und Verfärbungen des Hirns wurden gefunden, wenn die Serumbilirubinkonzentrationen vor der Sulfonamidinjektion besonders hoch waren - gewöhnlich also zwischen 13. und 16. Lebenstag. 18 - 48 Stunden alte Tiere entwickelten ernstere neurologische Zeichen als ältere Tiere bei gleichem Bilirubinspiegel. Die Purkinjezellzahl aller behandelten Ratten war im Kleinhirnwurm verringert. Intrazytoplasmatische Einschlüsse als Zeichen degenerativer Prozesse waren in kortikalen Neuronen recht weit verbreitet, ebenso Schrumpfung und Quellung von Zellen. Die Kapillarisation war in den am stärksten gefärbten Arealen am ausgeprägtesten.

Die Serumbilirubinkonzentration wurde mit wenigen Ausnahmen unabhängig vom Ausgangswert auf weniger als 1,5 mg/100 ml gesenkt, sofern die Tiere jünger als 33 Tage waren. Später ließ sich der

Bilirubinspiegel nur noch in geringerem Maße beeinflussen, wahrscheinlich, weil sich die Serumalbuminkonzentration dann gegenüber dem Wert neugeborener Ratten etwa verdreifacht hatte und somit ein wesentlich günstigeres Albumin - Bilirubinverhältnis vorlag. Auch das reichlich vorhandene subkutane Fettgewebe älterer Ratten spielte bei diesem Effekt sicherlich eine Rolle. HANEFELD und NATZSCHKA (30) riefen bei 14 Tage alten Gunn-Ratten durch Gabe von Sulfadimethoxin einen Kernikterus hervor. Mit histochemischen Methoden wurden die Enzymaktivitäten der Zellen des Kleinhirns, des Nucleus cochlearis und des Nucleus pontis dieser Tiere untersucht. Während die lysosomalen Fermente Cytochromoxydase, saure Phosphatase und β -Glukuronidase keine eindeutigen Veränderungen erkennen ließen, waren die oxydativen Enzyme LDH, SDH, IDH, NADH_2 -R und NADPH_2 -R in bilirubinhaltigen Zellen deutlich verringert oder nicht nachweisbar. Der gleiche Befund bot sich auch in einigen morphologisch unauffälligen, bilirubinfreien Ganglienzellen. Als Ursache der Beeinträchtigung der oxydativen Enzyme wurde die zytotoxische Wirkung des Bilirubins angesehen.

NATZSCHKA et al. (50) stellten fest, daß die Kernikterusinzidenz und die Mortalität junger Gunn-Ratten nach Gabe von Madribon^R durch eine mehrtägige Prednisonvorbehandlung gesenkt werden kann. Man nahm an, Prednison könnte die Permeabilität der "Blut-Hirnschranke" für Bilirubin verringern.

ODELL (54) führte in vitro Versuche zum Problem des sulfonamid-induzierten Kernikterus durch, die von entscheidender Bedeutung für das Verständnis der Pathogenese waren. Ausgehend von den Beobachtungen KLOTZ' (39), der eine Affinität vieler organischer Anionen zum Albumin beschrieb, untersuchte ODELL die Eiweißbindung des Bilirubins mit Spektrophotometrie, Ultrafiltration und Dialyse. Er wies nach, daß Sulfisoxazol bereits in klinisch üblichen Konzentrationen in der Lage ist, proteingebundenes Bilirubin zu entkoppeln und somit seine Passage durch semipermeable Membrane zu gestatten. Als Bindungsstelle werden von KLOTZ sowie von ODELL die Säureradikale der Sulfonamide und der Anionen schlechthin sowie die kationischen Aminogruppen des Albumins

angesehen. Für das Bilirubin wird angenommen, daß die Carboxylgruppen der Propionsäureseitenketten in erster Linie für die Albuminbindung verantwortlich sind. Im Gegensatz zu diesen Auffassungen wird von KRIEGLSTEIN (42) die überragende Bedeutung hydrophober Bindungen für den Albumin-Bilirubinkomplex betont. Die Bindungskapazität von 1 Mol Albumin beträgt bei pH 7,4 2 Mol Bilirubin (MARTIN (49)). Das zweite Bilirubinmolekül kann nach den Regeln des Massenwirkungsgesetzes wesentlich leichter vom Albuminmolekül dissoziieren als das erste (ODELL (52)). Bei pH 7,9 sollen 3 Mol Bilirubin von 1 Mol Albumin gebunden werden können. JOSEPHSON und FURST (38) zeigten mit Methoden der Ultrafiltration und Gelfiltration an Sephadexsäulen, daß Bilirubin selbst in hohen Konzentrationen keinen Einfluß auf die Eiweißbindung der Sulfonamide hat. Bei niedrigen Serumbilirubinkonzentrationen war kein freies Bilirubin nachweisbar, wenn die Sulfonamidkonzentration gering war. Die Autoren folgerten daraus, das Massenwirkungsgesetz sei auf die Bilirubin-Albuminbindung nicht anwendbar oder die Reaktionskonstante extrem klein. Es muß jedoch bedacht werden, daß geringe Konzentrationen freien Bilirubins mit den angewendeten Methoden kaum zu erfassen sind. MALAKA-ZAFIRIU und STRATES (48) fanden eine Verringerung der Bindungskapazität des Albumins für 2(4'-Hydroxybenzenazo)-Benzoessäure, die mit dem Bilirubin um die Albuminbindung konkurriert, von über 25 %, wenn sie die Sulfonamide Sulfisoxazol (Gantrisin^R), Sulfexin (Sulfexin^R) oder Sulfaisodimidin ((Elkosin^R) zu standardisierten Albuminlösungen in klinisch üblichen Konzentrationen hinzufügten.

SCHIFF et al. (66) stellten mit Sephadex-Gelfiltration und Spektrophotometrie Interaktionen zwischen Medikamenten und ihren Hilfsstoffen hinsichtlich der Verdrängung des Bilirubins aus der Albuminbindung fest. Während gelöstes reines Coffein kein Bilirubin freisetzt, bewirkt die Drogenkombination Coffein-Natriumbenzoat einen fast vierfach stärkeren Verdrängungseffekt als das als Lösungsvermittler verwendete Natriumbenzoat. Auch reines gelöstes Diazepam Pulver bewirkt keine Bilirubin-freisetzung. Diazepam injectabile jedoch, das verschiedene Hilfs-

stoffe enthält, ruft eine Bilirubinverdrängung hervor, die der des Hilfsstoffgemisches vergleichbar ist, welches u.a. Natriumbenzoat beinhaltet.

WINDORFER jun. und MIHAILOVA (87) sowie WINDORFER jun. et al. (88) untersuchten den Einfluss des pH-Wertes auf die Abspaltung des Bilirubins aus der Eiweißbindung durch verschiedene Medikamente, indem sie durch Gelfiltration von Serum Neugeborener und Frühgeborener albumingebundenes von freiem Bilirubin trennten. Im Gegensatz zu ODELL (53) fanden sie eine Abnahme der Albumin-Bilirubin-Dissoziation durch Verschiebung der pH-Werte in den sauren Bereichen bei allen untersuchten Medikamenten. Als Begründung führten die Autoren die geringere Löslichkeit des Bilirubins im sauren Milieu sowie eine mögliche Änderung der Sekundärstruktur des Albumins an. Weiterhin wurde festgestellt, daß die Bilirubinverdrängung ceteris paribus bei Frühgeborenen leichter gelingt als bei Neugeborenen.

IV. DIE PHOTOTHERAPIE FRÜH- UND NEUGEBORENER MENSCHEN UND HOMOZYGOTER GUNN-RATTEN

Die Phototherapie ist von CREMER und Mitarbeitern (20) als Methode zur Behandlung der Hyperbilirubinämie Früh- und Neugeborener eingeführt worden. Ausgehend von der Beobachtung, daß die Hautverfärbung ikterischer Säuglinge nach kurzer Sonnenlichtexposition abbläßt, wiesen die Autoren in vitro eine hohe Photosensibilität des Serumbilirubins nach. Das indirekte Bilirubin ist etwa zwei- bis dreimal so photosensibel wie das konjugierte, direkt reagierende Bilirubin, wenn es mit natürlichem Weißlicht oder künstlichem Blaulicht bestrahlt wird. Letzteres sendet Lichtenergie hauptsächlich zwischen 420 und 480 nm im Bereich der Absorptionsmaxima und der größten Lichtempfindlichkeit der Bilirubinverbindungen aus. Als photooxydatives Abbauprodukt entsteht neben anderen Komponenten in vitro Biliverdin, das im Gegensatz zum Bilirubin keine Entkopplung der oxydativen Phosphorylierung und keine Verringerung der Sauerstoffaufnahme der Mitochondrien von Hirn und Leber bewirkt (ZETTERSTRÖM und ERNSTER (91); DAY (21)).

Die Bilirubinkonzentration ikterischer Seren verringert sich nach Untersuchungen von CREMER und Mitarbeitern (20) innerhalb einer Stunde um bis zu 30 %, wenn Proben intensivem Tageslicht ausgesetzt werden. Die aufgrund dieser Beobachtungen zu erwartenden therapeutischen Möglichkeiten wurden an Frühgeborenen mit physiologischem Ikterus erprobt. 13 Kinder wurden unbekleidet intermittierend für insgesamt 2 bis 4 Stunden direktem Sonnenlicht ausgesetzt. 11 Probanden wiesen einen ausgeprägten Abfall der Serumbilirubinkonzentration auf, bei einem war der Wert unverändert, und bei einem weiteren wurde ein Anstieg registriert. Grundsätzlich stand der Grad der Konzentrationsverringerung in direktem Verhältnis zur Höhe des Ausgangswertes und zur Expositionsdauer. Künstliches Blaulicht bewirkte bei 9 ikterischen Frühgeborenen ebenfalls eine signifikante Verringerung der Serumbilirubinkonzentration. Dabei schien eine intermittierende Bestrahlung mit sechsständigen

Behandlungsperioden und zweistündigen Pausen günstigere Ergebnisse zu bewirken als eine kontinuierliche. Zwei Fälle von Rh-Inkompatibilität erwiesen sich als therapieresistent. Inzwischen hat eine Vielzahl von Untersuchern über die günstigen Ergebnisse der Phototherapie berichtet, die in bezug auf Bestrahlungsdauer, -intensität und -rhythmus unterschiedlich durchgeführt wurde.

FERREIRA et al. (24), BEREZIN (9) sowie BROUGHTON et al. (17) unternahmen ihre Bestrahlungsversuche in dem von CREMER und Mitarbeitern (20) empfohlenen intermittierenden Modus. FERREIRA et al. (24) erzielten bei 77 bestrahlten Neugeborenen nach neun-stündiger Behandlung eine mittlere Verringerung der Serumbilirubinkonzentration von 4,2 mg/100 ml. 14 Neugeborene waren jedoch relativ therapieresistent: ihr Bilirubinspiegel stieg um ca. 3 mg/100 ml an. BEREZIN (9) unterwarf 25 Neugeborene mit einer durchschnittlichen Serumbilirubinkonzentration von 25,08 mg/100 ml über 24 Stunden der Phototherapie. Dabei wurde eine ausgeprägte Verringerung des Bilirubinspiegels von im Mittel 27,5 % entsprechend 6,93 mg/100 ml erreicht. Bei einem Kind mit ABO-Inkompatibilität war allerdings wegen starker Hämolyse dennoch eine Austauschtransfusion erforderlich.

BROUGHTON et al. (17) erzielten bei 11 Früh- und Neugeborenen innerhalb von 12 Stunden eine durchschnittliche Senkung der Serumbilirubinkonzentration von 2,9 mg/100 ml. In einer gleichstarken Kontrollgruppe hingegen stieg die Konzentration um 0,2 mg/100 ml.

FRANKLIN (25) arbeitete mit Bestrahlungsperioden unterschiedlicher Dauer. Bei 10 von 12 Neugeborenen verringerte sich die Bilirubinkonzentration, während die Werte bei 6 von 13 Kindern der Kontrollgruppe um 1 - 4,2 mg/100 ml anstiegen. Kontinuierliche mehrtätige Lichtbehandlungen wurden u.a. von BALLABRIGA und GALLART-CATALA (4), BEREZIN und CAPOZZI (10), LUCEY et al. (47), GUINTA und RATH (27) und von SISSON et al. (78) durchgeführt. BALLABRIGA und GALLART-CATALA (4) bestrahlten mit gutem Erfolg

über 48 Stunden Kinder bereits bei einem Bilirubinspiegel von 10 - 12 mg/100 ml. Als Energiequellen dienten jeweils in zwölfstündigem Wechsel Kunstlicht und Sonnenlicht.

BEREZIN und CAPOZZI (10) untersuchten 77 Früh- und Neugeborene, von denen 55 mit einer durchschnittlichen Serumbilirubinkonzentration von 22,5 mg/100 ml bis zu 72 Stunden kontinuierlich mit Blaulicht bestrahlt wurden. Die mittlere Konzentrationsverringering betrug nach 24 Stunden 5,4 mg/100 ml, nach 48 Stunden 7,3 mg/100 ml und nach 72 Stunden 7,1 mg/100 ml. Drei Kinder sprachen auf die Therapie nicht an. Eine Gruppe von 4 geburts-traumatisierten Kindern mit inneren Blutungen zeigte keine positive Reaktion auf die Phototherapie. Die Serumbilirubinkonzentration der 18 unbehandelten Kontrollkinder stieg bei einem durchschnittlichen Ausgangswert von 18,4 mg/100 ml nach 24 Stunden um 3,5 mg/100 ml an, blieb bis 48 Stunden annähernd konstant und war erst nach 72 Stunden abgefallen.

LUCEY et al. (47) konnten die Serumbilirubinkonzentration Frühgeborener durch prophylaktische kontinuierliche Bestrahlung von der 12. bis zur 14. Lebensstunde unterhalb von 12 mg/100 ml halten. Das prophylaktische Vorgehen schien gerechtfertigt, da 10 bis 20 % aller Frühgeborenen innerhalb der ersten Lebenswoche Hyperbilirubinämien von mehr als 15 mg/100 ml entwickeln und andererseits manche Frühgeborenen bereits bei Konzentrationen von 12 - 20 mg/100 ml an Kernikterus sterben (BOGGS et al. (16), STERN und DOREY (83)).

SISSON et al. (78) verglichen die Wirksamkeit der Phototherapie bei ABO-Inkompatibilität (25 Fälle) und bei nichthämolytischem Ikterus (46 Fälle), indem sie die betroffenen Kinder bei Serumbilirubinkonzentrationen von 10 mg/100 ml beginnend bestrahlten, bis Werte von 7,5 mg/100 ml erreicht waren. Diese Prozedur erforderte gewöhnlich 3 Tage. Neben den in allen 3 Gewichtsklassen (unter 1 500 g, 1 501 bis 2 500 g und über 2 500 g) im Vergleich zu den unbestrahlten Kontrollkindern deutlich niedrigeren Bilirubinwerten fiel auf, daß bei den Kindern mit Unverträglich-

keit im ABO-System die Serumbilirubinkonzentration bereits am 1. Tag am stärksten abfiel, während dies bei den Kindern mit nichthämolytischem Ikterus erst am 2. Tag geschah. Eine Austauschtransfusion war bei keinem der bestrahlten Neugeborenen erforderlich, wohl aber bei 3 Kontrollkindern mit ABO-Inkompatibilität.

GUINTA und RATH (27) konnten zeigen, daß die helle Beleuchtung von Neugeborenenstationen mit einem vergleichsweise geringen Energiefluß von 80 - 100 footcandle (1 footcandle $\hat{=}$ 10,76 Lux) bereits eine Verringerung der Serumbilirubinkonzentration Früh- und Neugeborener von etwa 20 % bewirkt (47 bestrahlte, 49 Kontrollkinder). Bei LUCEY (46) findet sich eine Aufstellung kontrollierter Studien von OBES-POLLERI, SCHWARTZ und HODGMAN, PORTO und HSIA sowie von LUCEY, FERREIRO und HEWITT mit insgesamt 276 bestrahlten und 245 Kontrollkindern. Der geschätzte Lichtfluß betrug bei allen Arbeiten, außer bei der von GUINTA und RATH, zwischen 300 und 550 footcandles. Die Serumbilirubinkonzentration war durch die Bestrahlung am 2. Tag durchschnittlich um 20 - 35 % und am 4. Tag um 41 - 55 % gesenkt worden. Die Ergebnisse der Studie von GUINTA und RATH sind bei diesen Werten nicht berücksichtigt. Faßt man die Arbeiten von SCHWARTZ und HODGMAN, GUINTA und RATH sowie LUCEY et al. zusammen, so ergeben sich bei 8 % der bestrahlten Frühgeborenen Bilirubinwerte über 12 mg/100 mg gegenüber 44 % in der Kontrollgruppe. 15 mg/100 ml werden nur von 1,6 % der bestrahlten Kinder erreicht, während bei immerhin 22 % der unbehandelten Frühgeborenen dieser Wert gemessen wird.

Die Wirkung der Phototherapie auf Gunn-Ratten wurde u.a. von BALLOWITZ et al. (6), HELLER (31), JOHNSON und SCHUTTA (37), SISSON (77), BALLOWITZ (5) sowie von HAMPPEL (29) untersucht. BALLOWITZ et al. (6) sowie HELLER (31) bestrahlten insgesamt 105 homozygote und 28 heterozygote neugeborene Gunn-Ratten vom 4. bis zum 12. Lebenstag mit hellblauen Leuchtstofflampen. Die Beleuchtungsstärke im Niveau der Tiere betrug 800 Lux. Nach 6-bis 10-stündiger direkter Lichtexposition verringerte sich die Serumbilirubinkonzentration der homozygoten Tiere um

durchschnittlich 1,3 bis 1,4 mg/100 ml, was einem Abfall von etwa 14 % entspricht. Die Daten der unbestrahlten Kontrolltiere schwankten unregelmäßig um den Ausgangswert. Auffällig war eine Retardierung der Gewichtszunahme und der Fellentwicklung sowie eine erhöhte Sterblichkeit der bestrahlten Tiere, die bei Homo- und Heterozygoten gleichermaßen ausgeprägt waren. Durchfälle traten bei den bestrahlten Ratten häufiger als bei den Kontrolltieren auf; ferner wurden gelegentlich Konjunktivitiden beobachtet. Histologische Untersuchungen der Retinae ergaben nach dem üblichen Bestrahlungszyklus vom 4. bis 12. Tag keine auffälligen Veränderungen. Nach sechswöchiger Exposition war jedoch eine erhebliche Abflachung der äußeren photorezeptiven Schichten mit numerischer Zellatrophie nachweisbar. Die Wachstumsretardierung bestrahlter Tiere, die in einer ähnlichen Studie von JOHNSON und SCHUTTA (37) nicht auftrat, wurde nach weiteren Untersuchungen von BALLOWITZ (5) auf eine lichtinduzierte Laktationshemmung der Rattenmütter und eine Herabsetzung der Sauglust der Rattenbabies zurückgeführt.

Weiterhin zeigte sich eine wesentlich stärkere Photodekomposition des Bilirubins nach Blaulichtbestrahlung als nach Weißlicht vergleichbarer Beleuchtungsstärke. SISSON et al. (77) konnten mit Blaulicht eines verhältnismäßig engen Wellenlängenbereiches von 430 - 550 nm eine 70-bis 90 %ige Verringerung der Serum-bilirubinkonzentration homozygoter Gunn-Ratten erreichen, die von der Geburt bis zum 12. bis 17. Tag bestrahlt wurden. Durch eine 66-stündige Blaulichtexposition 16 bis 18 Tage alter Tiere wurde ein Abfall von 50 bis 55 % hervorgerufen. JOHNSON und SCHUTTA (37) demonstrierten den Schutz vor der neurotoxischen Wirkung des Bilirubins durch die Phototherapie, indem sie Purkinjezellen des Kleinhirnwurmes von bestrahlten und von Kontrolltieren histologisch untersuchten. Die Gunn-Ratten wurden vom 3. bis 14. Lebenstag für täglich 2 bis 6 Stunden von den Müttern getrennt und mit Blaulicht bestrahlt. Die Gewichtszunahme und das klinische Befinden der mit 30 oder 170 Watt bestrahlten und der unbestrahlten homozygoten Tiere war gleichermaßen schlecht, während sich die heterozygoten Ratten beider Gruppen gut entwickelten.

Wurde den mit 170 Watt behandelten Tieren jedoch vor der Trennung von den Müttern zusätzlich Flüssigkeit (isotone Glukose- oder Bikarbonatlösung) appliziert, so war der durch die Phototherapie bewirkte Schutz vor der toxischen Wirkung des Bilirubins hervorragend. Der Prozentsatz normaler Purkinjezellen lag nach gewöhnlicher Ernährung für die bestrahlten homozygoten Tiere bei durchschnittlich 75 und für die unbestrahlten bei etwa 25. Die entsprechenden Werte der speziell ernährten Ratten waren hingegen rund 95 % und 55 %. Die Gewichtszunahme dieser Tiere unterschied sich in der Versuchs- und in der Kontrollgruppe nicht signifikant. Nach fünfstündiger Lichtexposition verringerte sich die Serumbilirubinkonzentration um durchschnittlich 29 %. HAMPEL (29) untersuchte die photodekompositorische Wirkung verschiedener Leuchtstoffröhren unterschiedlicher spektraler Strahldichteverteilung. Nach 30-minütiger Bestrahlung des Serums von einen Monat alten homozygoten Gunn-Ratten in vitro von oben und unten mit jeweils 6 intensiv blauen 20 Watt-Leuchtstoffröhren wurde ein Abfall des Serumbilirubins von 28 % erreicht. Hellblaue Lampen bewirkten eine Verringerung von 19 % und weiße von 15,4 %. Die Abstrahlung von 6 Lampen im für die Bilirubinoxidation wichtigen Wellenlängenbereich betrug im Abstand von 30 cm $2\ 200\ \text{microwatt/cm}^2$ (intensiv blaue Lampen), $1\ 030\ \text{microwatt/cm}^2$ (hellblaue Lampen) bzw. $590\ \text{microwatt/cm}^2$ (weiße Lampen). Die Serumbilirubinkonzentration einen Monat alter homozygoter Gunn-Ratten wurde nach 48-stündiger Bestrahlung mit intensiv blauen Lampen um bis zu 75 % des Ausgangswertes reduziert. Mit hellblauen Lampen wurde eine Verringerung von knapp 60 % und mit weißen Lampen von 56 % erreicht. Setzte man die Behandlung nach der Blaulichtbestrahlung mit weißen oder hellblauen Lampen fort, so zeigte sich keine weitere Änderung des Spiegels. Jedoch konnte die Bilirubinkonzentration mit blauem Licht noch gesenkt werden, wenn vorher weiße oder hellblaue Lampen verwendet worden waren. Der prozentuale Lichteffekt ist bei Rattenbabies in der Phase steigender Serumbilirubinwerte geringer als bei älteren Tieren, die sich hinsichtlich ihrer Bilirubinclearance im steady state befinden. Die Relation zwischen Lichtfluß und Verringerung der Serumbilirubinkonzentration verläuft nicht ganz linear. Unterhalb

eines Schwellenwertes zeigt sich bei Gunn-Ratten keine Wirkung auf das Serumbilirubin, und bei hohen Lichtintensitäten flacht die Kurve der Dosis-Wirkungsbeziehung parabolisch ab.

Gravierende Schädigungen sind dem Verfahren der Phototherapie zur Behandlung der Hyperbilirubinämie Neugeborener offenbar nicht anzulasten, wenn auch beachtet werden muß, daß die klinischen Erfahrungen bisher vorwiegend mit dem indifferenteren Weißlicht gewonnen⁺⁾ sind und kaum Studien über eingehende Nachuntersuchungen lichtbehandelter Kinder vorliegen. Leichte, flüchtige Exantheme sowie wasserreiche dunkelbraune oder grüne Stühle treten unter der Phototherapie häufiger auf. Auf eine vermehrte Perspiratio insensibilis bei erhöhter Atemfrequenz wurde von OH und KARECKI (57) hingewiesen. Ophthalmologische Komplikationen werden bei Kindern nicht beobachtet, wenn deren Augen bei der Bestrahlung abgedeckt werden. Der von TEBERG und HODGMAN (84) vorgebrachte Verdacht der Beeinträchtigung des Schädelwachstums konnte in umfangreichen nachfolgenden Untersuchungen ^{nicht} bestätigt werden. Allerdings ist diese Frage bisher nicht endgültig zu beurteilen, da möglicherweise eine Vielzahl von Faktoren wie Temperatur, Energieaufnahme und vorgeburtliche Ernährung das Schädelwachstum beeinflussen. Ein Nachteil muß darin gesehen werden, daß die Diagnose von Sepsis und Hämolyse jeder Genese, die zu ikterischer Hautverfärbung führen, durch die Anwendung der Phototherapie erschwert wird. Bei der Bestrahlung mit Blaulicht ist eine Zyanose schwer zu erkennen, weshalb erhöhte Wachsamkeit und nach Möglichkeit der Anschluß eines Monitors geboten sind.

Eine Komplikation der Phototherapie stellt das von KOPELMAN et al. (40, 41) beschriebene "Bronzebabysyndrom" dar, welches erstmalig bei der Behandlung eines frühgeborenen kaukasischen Mädchens beobachtet wurde. Das Kind entwickelte am 3. Lebenstag einen Ikterus. Am 4. Tag betrug die Serumbilirubinkonzentration 21 mg/100 ml bei einem hohen konjugierten Anteil von 8 mg/100 ml als Ausdruck einer Cholestase. Das Kind wurde mit acht 20 Watt-daylight-Leuchtstoffröhren bestrahlt und bekam nach 48 Stunden

+) worden

neben einer hämolytischen Anämie (Hämatokritabfall von 52 % auf 42 %) eine tief graubraune Verfärbung der Haut, des Serums und des Urins. Die Bilirubinwerte lagen jetzt bei 10 mg/100 ml total und 2 mg/100 ml direkt reagierend; die Transaminasen sowie die alkalische Phosphatase waren vermehrt. Nach 3 Wochen waren die Verfärbungen abgeklungen, der Hämatokrit jedoch auf 24 % abgesunken. Sieben Monate später waren keine Schäden mehr nachweisbar. Die Autoren führten die Bronzeverfärbung des Kindes auf eine verzögerte Ausscheidung der Photooxydationsprodukte des Bilirubins bei primärem Leberschaden zurück. Die Hämolyse wurde als Ergebnis einer photodynamischen Reaktion an der Erythrozytenmembran mit Bilirubin als Photosensibilisator gedeutet. Bei der Bestrahlung menschlicher Erythrozyten in vitro stellte die Arbeitsgruppe KOPELMANs (56) fest, daß Hämolyse in Gegenwart freien Bilirubins und Sauerstoffes auftrat. Diesem Prozeß ging eine Schädigung der Erythrozytenmembran voraus, die sich durch Kaliumionenverlust und Abnahme der Membran-ATP-ase-Aktivität äußerte. Die photodynamische Ursache der Hämolyse wurde nachgewiesen, indem man Erythrozyten des "Bronzebabys" in einer gepufferten Lösung mit 5 mg/100 ml Bilirubingehalt und einem molaren Bilirubin-Albuminverhältnis von 1,5 : 1 durch daylight fluorescent lamps bestrahlte. Nach 2 Stunden waren 1,5 % der bestrahlten und 0,3 % der unbestrahlten Erythrozyten hämolytisch. Wurden die Lösungen anschließend 18 Stunden im Dunkeln aufbewahrt, so ergaben sich Hämolyseraten von 80 % bzw. 1,3 %. Eine gleichermaßen behandelte bestrahlte bilirubinfreie Lösung wies einen Hämolyseanteil von nur 1,2 % auf. Ähnliche Werte ergaben sich, wenn Erythrozyten eines gesunden Erwachsenen verwendet wurden. Der sofort einsetzende Abfall des Kaliumgehaltes der Erythrozyten war der Strahlendosis direkt proportional, in Lösungen mit höherem molaren Bilirubin-Albuminverhältnis signifikant größer und überschritt prozentual immer das Ausmaß der Hämolyse. Bei Bestrahlungsversuchen in Abwesenheit von Bilirubin oder Sauerstoff trat bemerkenswerterweise kein Kaliumverlust auf. Der Nachweis einer Verringerung der totalen Erythrozyten-ATP-ase (Mg^{2+} - und $Na^{+}K^{+}Mg^{2+}$ -abhängige ATP-asen) gelang bei der Bestrahlung einer speziellen Erythrozytenpräparation in bilirubin-

haltiger Lösung. Die Enzymaktivität verringerte sich um 54 % und ließ sich durch Zugabe von Oubain nicht weiter beeinflussen. Als Glieder von Ionenpumpensystemen sind die ATP-asen integraler Bestandteil jeder intakten Zellmembran. Die Frage einer durch Licht in Gegenwart von Bilirubin hervorgerufenen Hämolyse wurde auch von BLACKBURN et al. (11, 12) untersucht. Die Autoren inkubierten Blutproben und bestrahlten sie mit Weißlicht von 2 000 footcandles für 16 Stunden. Verwendete man das Blut nichthyperbilirubinämischer Früh- und Neugeborener, so waren Hämolyse, Anschwellen der Erythrozyten, Kaliumverlust und Abfall des erythrozytären reduzierten Glutathions (GSH) gering, wenn auch bei den lichtexponierten Proben signifikant stärker als bei den Kontrollproben. Mit dem Blut hyperbilirubinämischer Kinder wurden ähnliche Ergebnisse erzielt. Jedoch waren Hämolyse und Kaliumleck der bestrahlten Proben ausgeprägter. Auffällig war auch, daß die Plasmahämoglobinkonzentration vor der Behandlung wesentlich größer war als bei normalen Blutproben. Wenn dem Blut gesunder Neugeborener vor der Inkubation im Dunkeln Bilirubin (20 mg/100 ml) oder Bilirubinspaltprodukte zugegeben wurden, verstärkten sich Hämolyse, Kaliumverlust und GSH-Abfall signifikant. Dabei waren die Veränderungen in bilirubinhaltigen Proben ausgeprägter als in solchen, die Spaltprodukte enthielten. Aus den Ergebnissen wurde gefolgert, daß Lichtbestrahlung die Integrität fetaler Erythrozyten beeinträchtigen kann. Die stärkeren Veränderungen des Blutes ikterischer Kinder wurde auf Anomalitäten der Erythrozyten und auf die Membrantoxizität des Bilirubins und der Spaltprodukte per se zurückgeführt. Ob photodynamische Reaktionen des Bilirubins ebenfalls eine Rolle hierbei spielen, ließ sich nicht abschätzen. Es muß betont werden, daß die erhobenen Befunde zwar signifikant, aber sehr geringgradig und die verwendeten Lichtintensitäten etwa 5 - 6mal größer als die klinisch gebräuchlichen waren. Außerdem ist es fraglich, in welchem Maße der die Photooxydation des Bilirubins bewirkende blaue Anteil des sichtbaren Lichtes in vivo überhaupt die Erythrozyten erreichen kann, da er bei senkrechtem Einfall nur eine Eindringtiefe von 0,2 mm in die menschliche Haut hat (SPIER (79)),

und die Kapillarschlingen des corealen Papillarkörpers unterhalb der 0,04 - 0,23 mm dicken Epidermis liegen (LEONHARDT (45)). Durch wiederholte Reflexion an Zellmembranen kann sich die Eindringtiefe des blauen Lichtes allerdings unter gleichzeitigem Energieverlust vergrößern. So zeigten auch die Untersuchungen der Arbeitsgruppe BLACKBURNs (13) an 22 gesunden Frühgeborenen, daß die beschriebenen Erythrozytenschädigungen bei der Lichtbehandlung in vivo nicht auftreten.

Die Indikation der Phototherapie zur Behandlung der Hyperbilirubinämie Früh- und Neugeborener wird heute bei Serumbilirubinkonzentrationen oberhalb 10 mg/100 ml gestellt, sofern die Werte innerhalb der ersten 48 Stunden 14 mg/100 ml und nach dem 2. Tag 19 mg/100 ml nicht übersteigen. Ausnahmen bilden Hämolyse innerhalb der ersten 24 Stunden, perinatale Asphyxie, Atemnotsyndrom, metabolische Azidose ($\text{pH} < 7,25$), Hypothermie (Körpertemperatur $< 35^{\circ}\text{C}$), niedriges Serumeiweiß ($< 5 \text{ g/100 ml}$), Geburtsgewicht unter 1 500 g und Zeichen zerebraler Irritation, die Austauschtransfusionen in Fällen erforderlich machen, die sonst der Phototherapie vorbehalten wären. Statistisch gesehen erhalten zu viele hyperbilirubinämische Früh- und Neugeborene eine Austauschtransfusion, da man die Entwicklung eines Kernikterus, die von einer großen Zahl von Faktoren abhängig ist, nicht sicher voraussagen kann. Durch eine liberale Anwendung der Phototherapie konnte die Anzahl der erforderlich scheinenden Austauschtransfusionen drastisch gesenkt werden. Während LUCEY (46) 1966 noch 25 % der Kinder mit positivem Coombstest einer Austauschtransfusion unterwarf und 8 % bestrahlte, waren zwischen 1970 und 1972 bei einer Phototherapierate von 88 % nur noch in 9 % Austauschtransfusionen notwendig.

V. PHYSIKOCHEMISMUS UND METABOLISMUS DES BILIRUBINS

UNTER DEM EINFLUSS DER PHOTOTHERAPIE

Unter dem Einfluß der Phototherapie erfährt der Bilirubinmetabolismus Modifizierungen, die offenbar auf verschiedenen Mechanismen beruhen. Zunächst seien die physikochemischen Grundlagen der Photochemie, die für das Verständnis der Wirkungen der Phototherapie von Bedeutung sind, dargelegt. Unter photochemischen Reaktionen verstehen wir solche, die durch elektromagnetische Wellen des sichtbaren Frequenzbereiches mit einer Wellenlänge λ zwischen 4.000 und 7 800 nm oder des ultravioletten Bereiches ($\lambda = 1\ 000 - 4\ 000$ nm) hervorgerufen werden. Das Licht wird von den bestrahlten Molekülen in Form von Photonen oder Lichtquanten absorbiert, indem ein Valenzelektron auf eine Bahn höherer Energie emporgehoben wird (photochemischer Primärprozeß). Die Anregungsenergie entspricht genau der des absorbierten Photons, dessen Energiequantum E der Frequenz der betreffenden Lichtart proportional ist: $E = h \cdot \nu$. Dabei ist h ein Proportionalitätsfaktor, das Plancksche Wirkungsquantum (8, 32). Die Energiequanten blauen Lichtes sind energiereicher als die des längerwelligen Rotlichtes (ca. 56 %). Die Quantenausbeute (Zahl der angeregten Moleküle pro Zahl der absorbierten Quanten) des photochemischen Primärprozesses ist aufgrund des beschriebenen Anregungsmechanismus gleich eins (EINSTEINSches Gesetz). Die Lichtabsorption erfolgt in recht spezifischer Weise, da die Energie eines Anregungszustandes eines Moleküls strukturabhängig ist; d. h. ein Molekül absorbiert direkt nur Photoenergie von Strahlungen bestimmter Wellenlängen. So gibt es zahlreiche chromophore Gruppen, zu denen auch das Ringsystem des Bilirubins gehört, die sich durch eine charakteristische Lichtabsorption auszeichnen. Über die Anregung verschiedener Elektronenniveaus eines Moleküls geben die Absorptionsspektren Auskunft, die durch Auftragen des dekadischen molaren Extinktionskoeffizienten gegen die Wellenlänge des verwendeten Lichtes erhalten werden. Die Intensität einer Absorptionsbande ist dabei ein Maß für die Wahrscheinlichkeit eines Überganges

zu einem höheren Elektronenniveau durch Lichtabsorption (32). Die angeregten Moleküle können verschiedene Folgereaktionen durchmachen, die man als photochemische Sekundärprozesse bezeichnet: Fluoreszenz, Phosphoreszenz, Energieübertragung, Dissoziation und chemische Reaktion. Die Fähigkeit zahlreicher organischer Moleküle, nach erfolgter Anregung Licht auszustrahlen, ist als Lumineszenzphänomen bekannt. Tritt dieser Vorgang sehr schnell innerhalb von 10^{-9} - 10^{-5} sec ein, so spricht man von Fluoreszenz, dauert er mehr als 10^{-5} sec, so meist er Phosphoreszenz. Phosphoreszenz gibt es fast nur bei sehr tiefer Temperatur. Ein klassisches Beispiel des photochemischen Zerfalls bietet die Photolyse des Wassers bei der biologischen Photosynthese, der allerdings eine Energieübertragung vorausgeht. Auch der oxydativen Dekomposition des Bilirubins zu Dipyrrolen während der Phototherapie liegt offenbar solch ein photochemischer Zerfall zugrunde. Die quantenhafte Übertragung der Elektronenanregungsenergie auf andere Moleküle ist eine bemerkenswerte Eigenschaft elektronisch angeregter Moleküle. Dabei wird das Donormolekül deaktiviert und das Akzeptormolekül durch Aktivierung zu photochemischen Sekundärreaktionen befähigt. Dieser auch als photodynamische Reaktion bezeichnete Übertragungsvorgang steht in Konkurrenz zu allen anderen Deaktivierungsprozessen wie Fluoreszenz, Zerfall in freie Radikale oder chemischen Reaktionen (8, 32). Da die Voraussetzung für die chemische Wirkung einer bestimmten Lichtart ist, daß sie von einem reaktionsfähigen System absorbiert wird, kann z.B. ein gelber Farbstoff nicht direkt durch grünes Licht aktiviert werden, weil dieser erst im blauen Bereich (Komplementärfarbe) zu absorbieren beginnt. Fügt man jedoch Donormoleküle (photochemische Sensibilisatoren) hinzu, die im grünen Wellenlängenbereich absorbieren, so kann der gelbe Farbstoff durch Energieübertragung aktiviert und photochemischen Reaktionen unterworfen werden (34). Solche photodynamischen Reaktionen verlaufen grundsätzlich photokatalytisch, d. h. der Sensibilisator selbst erfährt bei der Energieübertragung keine Veränderung (81).

Aus der Botanik sind uns mit den Photopigmenten der Photosynthese und mit den Phytochromen energieübertragende Systeme bekannt, die Lichtenergie in chemische Energie umwandeln bzw. Einfluß auf Genaktivitäten ausüben (51). Im vorangehenden Kapitel ist bereits auf die verringerte Bindungsfähigkeit des Albumins für Bilirubin und die verstärkte Hämolyse in Gegenwart von Bilirubin oder Sauerstoff unter der Phototherapie hingewiesen worden. Es handelt sich um pathologische Prozesse, die als photodynamisch angesehen werden.

CREMER und Mitarbeiter (20) beobachteten bei der Weißlichtbestrahlung des Serums ikterischer Kinder, daß sich die Extinktion im Wellenlängenbereich bei 420 nm, wo ein charakteristisches Absorptionsmaximum des Bilirubins liegt, etwas verringert und zwischen 550 und 650 leicht zunimmt. Dieses Phänomen wurde als Photooxydation des Bilirubins zu Biliverdin oder anderen Intermediärprodukten gedeutet. Auch BLONDHEIM und Mitarbeiter (15) sahen einen Intensitätsverlust der Absorptionsbande im Bereich der maximalen optischen Dichte des Bilirubins und einen Extinktionsanstieg bei etwa 660 nm, wenn sie ikterische Seren bestrahlten. Weiterhin zeigte sich eine Translation des Absorptionsmaximums von 450 - 460 nm nach 410 - 425 nm. Die Autoren schlossen daraus, daß die Photodegradationsprodukte weitgehend ungebunden sind, da die Absorptionsmaxima des ungebundenen Bilirubins bei 420 nm und des albumingebundenen bei 460 nm liegen. Ein durch Ultrafiltration dargestelltes gelbes, diazopositives, wasserlösliches Pigment erwies sich zudem als diffusibler als ungebundenes Bilirubin.

OSTROW und BRANHAM (61), OSTROW (59) sowie OSTROW und BERRY (60) untersuchten den Photokatabolismus des Bilirubins an Gunn-Ratten, denen sie vor Bestrahlungsbeginn radioaktives ^3H - bzw. ^{14}C - markiertes Bilirubin intravenös injizierten. Die Tiere schieden die radioaktiven und die diazoreaktiven Komponenten nach einer gewissen Äquilibrierungsperiode langsam und stetig in die Galle aus, und die Plasmaaktivität zeigte einen semilogarithmischen Abfall.

Bei der Lichtexposition verfärbte sich die Galle prompt tief goldbraun. Ein maximal 3- bis 7-facher Anstieg der Diazo-reaktivität war von einer noch stärkeren Zunahme der biliären Radioaktivität begleitet. Auch die - absolut geringe - Radioaktivität in Stuhl und Urin steigerte sich bis auf dreifache Raten. Die Pentdyopentreaktion zum Nachweis von Dipyrrolen wurde in der Galle leicht und im Urin stark intensiviert. Nach Bestrahlungsende wurden die Ausgangswerte nur langsam wieder erreicht. Die spektrophotometrische und dünn-schichtchromatische Analyse der ausgeschiedenen Pigmente und ihrer Azoverbindungen bewies die zweifache Wirkungsweise der Lichtbehandlung:

1. Wasserlösliche Bilirubinderivate, die nicht mit den in vivo entstehenden Photodekompositionsprodukten identisch sind, werden sehr schnell vorwiegend mit der Galle sowie mit dem Urin ausgeschieden. 2. Unkonjugiertes Bilirubin wird verstärkt in die Galle ausgeschieden bis zu Konzentrationen, die knapp unterhalb der minimal erreichbaren Plasmakonzentration liegen. Diese Befunde sprechen für eine bedeutsame Beeinflussung des Bilirubin-metabolismus durch eine photoinduzierte Leberfunktionsänderung. Es ist anzunehmen, daß die Lichtwirkung die hepatozytären Membrane der Canaliculi frei permeabel macht für die massive Diffusion des ungebundenen Bilirubins vom Blut zur Galle (59). SCHMID (68, 70) spricht in diesem Zusammenhang von der Stimulation eines alternativen Stoffwechselweges. Auf welche Weise die hepatischen Funktionsänderungen entstehen, ist bisher nicht bekannt. Bemerkenswert ist jedoch, daß Lichteinwirkung Enzymaktivitäten und eine Vielzahl von Leistungen des neuroendokrinen Apparates - darunter interessanterweise auch die ACTH-Ausschüttung - zu beeinflussen vermag (WURTMAN (89), ASCHOFF (3)). Durch elektronenoptische Untersuchungen konnten GOODMAN und THALER (26) an ikterischen und an*xi*kterischen Gunn-Ratten nachweisen, daß die Leber unter der Einwirkung intensiven Lichtes strukturelle Veränderungen erfährt. Vor Beginn der Phototherapie wurden elektronendichte, biliäre Ablagerungen in perikanalikulären Arealen gesehen. Nach 96-stündiger Lichtbehandlung waren diese Körper in der Gruppe der ikterischen Ratten größer und zahlreicher. Große, membranös

abgegrenzte Vakuolen mit myelinähnlichen Figuren und granuläres Material entstanden bei ikterischen und anikterischen Tieren gleichermaßen. Eine Beeinträchtigung der Lobärarchitektur, Entzündung, Nekrose oder Cholestase traten nicht auf. Nach zwei Wochen waren keine lichtinduzierten Veränderungen mehr vorhanden.

Den Einfluß von pH-Wert und Albumin auf die Photodekomposition des Bilirubins in wässrigen Lösungen untersuchten OSTROW und BRANHAM (62). In alkalischen Lösungen ohne Albumin ist Bilirubin sogar im Dunkeln instabil, und bei Bestrahlung beschleunigt sich die Photodestruktion mit ansteigenden pH-Werten. In Gegenwart von Albumin wird das Bilirubin jedoch im alkalischen Milieu langsamer abgebaut. ODELL et al. (55) stellten fest, daß sich die Bindungskapazität des Albumins für Bilirubin mit zunehmender Bestrahlungsdauer verringert, wenn es sich in ^{ein}er Lösung mit Methylenblau befindet, das wie andere Farbstoffe und einige Medikamente als photochemischer Sensibilisator wirken kann. Als Ursache hierfür sahen die Autoren die photodynamische Zerstörung des Imidazolringes des Histidins an, das offenbar als Bindungsstelle des Bilirubins am Albumin fungiert. Ob derartige Vorgänge auch in vivo von Bedeutung sind, ist bisher nicht geklärt.

Die Atoxizität der Photodegradationsprodukte des Bilirubins ist in einer Vielzahl von Studien nachgewiesen worden. DAY (21) demonstrierte, daß die Sauerstoffaufnahme des Rattenhirns in Gegenwart von 20 mg/100 ml Bilirubin signifikant verringert ist, während durch Biliverdin keine derartige Hemmung hervorgerufen wird. BROUGHTON et al. (17) fanden keine Alteration der oxydativen Phosphorylierung, wenn α sie Rattenmitochondrien von Leber und Gehirn mit Bilirubinabbauprodukten inkubierten, die durch Bestrahlung von Bilirubinlösungen gewonnen worden waren. Bilirubin dagegen bewirkt in Konzentrationen von 20 mg/100 ml eine ausgeprägte Entkopplung der oxydativen Phosphorylierung der Lebermitochondrien (ZETTERSTRÖM und ERNSTER (91)). DIAMOND und SCHMID (22) maßen in

den Hirnen neugeborener Meerschweinchen, denen radioaktives ^{14}C -Bilirubin infundiert worden war, eine deutlich höhere Radioaktivität als in den Gehirnen von Tieren, die markierte Photodegradationsprodukte erhalten hatten. Die Tatsache, daß keines der mit Photodekompositionsprodukten behandelten Tiere starb, während nur 19 von 30 Tieren überlebten, denen Bilirubin verabreicht worden war, muß als deutlicher Hinweis auf die fehlende Neurotoxizität der Zerfallprodukte gewertet werden. SILBERBERG et al. (74) inkubierten myelinbildende Kleinhirnkulturen neugeborener Ratten in Nährmedien, die 30 mg/100 mg Bilirubin enthielten bzw. in solchen, deren Bilirubingehalt durch Bestrahlung mit Blaulicht von 30 bis auf 14 mg/100 ml indirekten Bilirubins reduziert worden war. Die Kulturen, die auf den bestrahlten Nährmedien gezüchtet wurden, zeigten eine normale Zellentwicklung ohne Anzeichen zytotoxischer Effekte. Schwere degenerative Zellschädigungen traten dagegen an Kulturen auf unbestrahlten Nährmedien auf. Die Veränderungen ähnelten denen, die SCHUTTA und JOHNSON (71) sowie SCHUTTA et al. (73) bei der histologischen Untersuchung der Gehirne bilirubinzephalopathischer Gunn-Ratten sahen. Die Mitochondrien waren vergrößert und geschwollen, und im Zytoplasma der Nervenzellen entwickelten sich lamellierte, warbelartige Gebilde. Bereits nach wenigen Stunden schollen Nerven- und Gliazellen an, und die Markscheiden degenerierten. Später bildeten sich zytoplasmatische Vakuolen aus, und schließlich kam es zur Zytolyse und zu vollständigem Myelinverlust. Es sei noch darauf hingewiesen, daß die Frage der Toxizität der Photoderivate des Bilirubins wahrscheinlich nur von untergeordneter Bedeutung ist, da diese wasserlöslich sind, mit großer Geschwindigkeit eliminiert und bei bestrahlten Versuchstieren nur in geringen Plasmakonzentrationen gefunden werden. Eine Kumulation größerer Mengen dieser Substanzen ist unwahrscheinlich (DIAMOND und SCHMID (22)).

VI. METHODEN

Unsere Untersuchungen führten wir an insgesamt 300 homozygoten (jj) Gunn-Ratten durch, die von heterozygoten (Jj) Müttern geboren worden waren. Jeweils die Hälfte der drei bis fünf Tage alten Wurfgeschwister wurde bestrahlt, die andere Hälfte im Dunkeln gehalten. Den Tieren beider Gruppen wurden gleiche Dosen von Sulfonamiden oder Hilfsstoffen injiziert, die in den handelsüblichen Ampullen enthalten sind. Die Gruppen waren hinsichtlich des Gewichtes und der Vitalität der Einzeltiere vergleichbar.

Während der Versuchsperiode hielten wir die Tiere in transparenten Makrolonkäfigen, die in spezielle, von schwarzen, lichtdicht abschließenden Vorhängen umgebene Regale eingehängt waren. Jedes Regal umfaßte nebeneinander drei Käfige, deren mittlerer die Ratten enthielt; ein seitlicher Käfig wurde mit Leitungswasser gefüllt, um eine adäquate Luftfeuchtigkeit zu gewährleisten, der andere war mit einem Maximum-Minimum-Thermometer ausgestattet, mit dem die Konstanz der Lufttemperatur zwischen 25 und 30 ° C kontrolliert wurde. In einem Tierkäfig befand sich jeweils eine Rattenmutter mit maximal 7 Jungtieren. Die Zahl der zu säugenden Ratten wurde immer so gewählt, daß sie die Anzahl der Tiere des letzten Wurfes der Mutter nicht überstieg. Auf diese Weise sollte eine gute Nahrungsversorgung der Versuchstiere erreicht werden. Die Mütter erhielten Standardtrockenfutter (Altromin R 15^R) und Leitungswasser ad libitum.

In jeder Gruppe dienten ein oder zwei Tiere als Kontrolle für die Laktation der Mutter. Hierzu verwendeten wir jeweils die kleinsten homozygoten Wurfgeschwister und gaben ihnen keine Medikamente. Die Versuche, in denen diese starben, wurden in den Statistiken nicht berücksichtigt, da eine unzureichende Nahrungszufuhr durch Hypalbuminämie, Exsikkose, Fettsäurenmobilisierung und verstärkte Reabsorption von Bilirubin aus dem Darm ikterische Tiere zusätzlich gefährdet. Eine richtige Einschätzung der Drogenwirkung wäre bei mangelernährten Tieren nicht möglich gewesen.

Als Lichtquelle dienten zwölf mit 20 W betriebene, intensiv blaue Leuchtstoffröhren (Westinghouse F 20 T 12 BB), die zu je sechs über und unter den Käfigen in einem mittleren Abstand von 30 cm von den Tieren angebracht waren. Diese Röhren hatten sich wegen ihres hohen Blaulichtanteils als besonders wirkungsvoll bei der Photooxydation des Bilirubins erwiesen. Die von sechs Lampen ausgehende Bestrahlungsstärke im Wellenlängenbereich von 400 - 500 nm betrug in 30 cm Entfernung etwa $2\ 100\ \mu\text{W}/\text{cm}^2$. Durch die Drahtabdeckungen der Käfige, auf denen auch die Wasserflaschen und das Trockenfutter deponiert waren, wurde ein Energieverlust der Strahlung von etwa 20 bis 30 % hervorgerufen. Die Makrolonkäfige, die eine Wanddicke von 0,4 cm aufwiesen, absorbierten UV-Strahlung von weniger als 350 nm vollständig, während die Transmission im Bereich von 400 - 500 nm zwischen 85 und 90 % lag, so daß sich für die Strahlung von unten im phototherapeutisch wirksamen blauen Frequenzbereich ein Verlust von ca. 10-15 % ergab. Mehrmals täglich wechselten wir die ohne Einstreu benutzten Käfige aus, um einen Transmissionsverlust durch Verunreinigung weitgehend zu vermeiden. Die Strahlungsenergie im Tierniveau betrug somit etwa $3\ 400\ \mu\text{W}/\text{cm}^2$. Die auf die Versuchstiere einwirkende Energie wurde noch dadurch verringert, daß diese sich während des Säugens teilweise im Schatten der Mütter befanden.

In Vorversuchen bestimmten wir an drei bis fünf Tage alten, unter konventionellen Bedingungen gehaltenen heterozygoten (Jj) Gunn-Ratten die LD_{50} der von uns untersuchten Sulfonamide Sulfisoxazol (Gantrisin^R), Sulfadimethoxin (Madrison^R) und Sulfamethoxydiazin (Durenat^R) sowie der in ihnen enthaltenen Hilfsstoffe. Die Drogen wurden mit aqua dest. oder 0,9 %iger NaCl-Lösung verdünnt, um eine genauere Dosierung zu ermöglichen, und den Tieren in einer einzigen Injektion im Dorsalbereich verabreicht. Zu Beginn der Hauptversuche studierten wir an homozygoten Gunn-Ratten die Wirkung einer einzigen hohen Medikamentendosis, deren höchste je nach Droge 55 - 80 % der LD_{50} ausmachte. Später wurde der Effekt wiederholt

⁺) subkutan

verabreichter kleinerer Dosen untersucht.

Blutproben zur Bestimmung der Serumbilirubinkonzentration und des Hämatokrit wurden vor der Injektion, nach 30 Minuten, 3, 24 und 48 Stunden gewonnen, indem der Schwanz der Tiere durch einen schnellen Scherenschlag um ca. 1 mm gekappt und das ausfließende Blut in heparinisierten Kapillarröhrchen aufgefangen wurde. Wenn erforderlich, wurden die Schwanzvenen vorsichtig ausgestrichen. Da wir die Gefäße sofort nach der Blutentnahme mit erhitzten Glasröhrchen verschorften, betrug der Blutverlust jeweils nicht mehr als 0,08 ml. Keinem in den Statistiken aufgeführten Tier wurde mehr als zweimal täglich oder dreimal insgesamt Blut abgenommen. Nach dem Zentrifugieren der Blutproben und der Hämatokritbestimmung verwahrten wir die Kapillaren in lichtundurchlässigen Kartons, um eine Photooxydation des Bilirubins zu vermeiden. Spätestens nach zwei Stunden wurde die Bilirubinbestimmung auf spektrophotometrischem Wege mit einem American Optical Bilirubinometer^R durchgeführt. Dabei konnten wir uns auf Einfachheitsbestimmungen beschränken, da die Streuung in vielen vorher durchgeführten Mehrfachbestimmungen $\pm 0,2 \text{ mg}/100 \text{ ml}$ nicht überstiegen hatte.

Täglich vormittags wogen wir die Ratten, bevor weitere Manipulationen an ihnen vorgenommen wurden. Besonderes Augenmerk richteten wir darauf, Zeichen photodynamischer Reaktionen zu erkennen. Dies schien uns sinnvoll, da von einigen Sulfonamiden bekannt ist, daß sie zumindest unter UV-Bestrahlung zu photoallergischen Reaktionen führen können (18, 23, 85). Auch in Hinblick auf das "Bronzebabysyndrom" und die in vitro nach Bestrahlung beobachtete Hämolyse und Verringerung der Albuminbindungsfähigkeit in Gegenwart von Bilirubin waren diese Untersuchungen von Interesse.

Symptome photodynamischer Reaktionen bei Versuchstieren sind unruhiges Umherrennen, kräftiges Kratzen, Dyspnoe, Tetanie und

Rötung der Ohren. Subakute Zeichen sind Ödeme der Haut sowie Nekrosen der Ohren und des Schwanzes; auch Hämolyse kann auftreten. Nach großen Lichtintensitäten oder Sensibilisatormengen entsteht u. U. innerhalb weniger Minuten ein massiver Schock, der zum Tode führen kann.

An vielen Ratten wurden Sektionen durchgeführt. Die zur Autopsie vorgesehenen Tiere, welche die Testperiode überlebt hatten, anästhesierten wir mit Äther und töteten sie nach Eröffnung der Bauchhöhle, indem wir die Aorta abdominalis durchtrennten. Der Grad der durch Bilirubin hervorgerufenen Gelbfärbung von Cerebrum, Cerebellum, Medulla oblongata und subkutanem Fettgewebe konnte bei den entbluteten Tieren gut beurteilt werden. Weiterhin wurde auf Schädigungen der Nierenpapillen, Katarakte und Färbung des Darminhaltes geachtet. Während des Versuchs gestorbene Ratten sezieren wir entweder sofort oder nach Lagerung bei $+ 4^{\circ} \text{C}$. Eine Beurteilung der Verfärbung der Gewebe dieser Tiere durch Bilirubineinlagerung war allerdings wegen der starken Blutfülle schwierig.

Die Kleinhirne mehrerer Tiere, die die Testperiode überlebt hatten, wurden histologisch untersucht.⁺ Einige der Ratten waren im Anschluß an die Versuche etwa ein Jahr lang unter gewöhnlichen Bedingungen gehalten worden. Die Tiere wurden durch Dekapitation getötet, und ihre Hirne sofort entfernt und mit CO_2 gefroren. Dieser Vorgang dauerte bei den Rattenbabies höchstens 90 Sekunden, bei den einjährigen Tieren etwa 5 Minuten. Das Kleinhirn und der Hirnstamm wurden mit einem Kryostaten in craniocaudaler Richtung in schmale Streifen geschnitten. Im Niveau von Nodus und Flokkulus wurden Serienschritte angefertigt, aufgezogen und bei $- 25^{\circ} \text{C}$ aufbewahrt. Mit einer 1965 von BARKA und ANDERSON beschriebenen Methode wurden folgende oxydativen Enzyme nachgewiesen: Laktatdehydrogenase (LDH), Sukzinatdehydrogenase (SDH) und NADH_2 -Reduktase (NADH_2R). Die Orte der Enzymaktivität wurden durch blaue intrazelluläre Granula sichtbar, die durch die Reduktion des wasserlöslichen gelben Farbstoffes Nitro-BT zu wasserunlöslichem blauen Formazan entstanden waren.

⁺ Diese Untersuchungen wurden von Dr. Hanefeld durchgeführt.

Standardkontrollen wurden durch Entfernen des Enzymsubstrates aus dem Inkubationsmedium bzw. durch Hitzeinaktivierung der Enzyme vorgenommen. Neben den histochemischen Enzymuntersuchungen wurden mehrere Hirne in 10 % Formol-Ca fixiert, in Paraffin eingebettet und zu 6 μ dicken Schnitten verarbeitet. Diese wurden dann mit Hämatoxylin-Eosin und Kresylviolett gefärbt. Die Anzahl der zerebellaren Purkinjezellen wurde beurteilt als normal N, fraglich normal (-), leicht verringert - und stark verringert

-- .

VII. ERGEBNISSE

Die prozentualen Überlebensraten bestrahlter und unbestrahlter neugeborener homozygoter Gunn-Ratten, die unterschiedliche Dosen verschiedener Sulfonamide oder als Kontrolltiere keine Medikation erhalten hatten, sind in Tab. 1 aufgeführt.

Die Sterblichkeit bestrahlter und unbestrahlter sulfonamid-behandelter Tiere nach Ablauf von 4 Tagen wurde mit dem χ^2 -Test zweiseitig verglichen. Sie ist bei allen bestrahlten Ratten - außer denen, die 600 mg/kg Gantrisin^R oder 200 mg/kg Madribon^R erhalten haben - auf dem 5 %-Niveau signifikant niedriger. Am deutlichsten zeigt sich das wesentlich bessere Abschneiden bestrahlter, mit Sulfonamiden behandelter Tiere an der für die Gesamtzahl der Ratten angegebenen Überlebensrate. Der Unterschied ist hochsignifikant. Die geringere Sterblichkeit der lichtbehandelten Kontrolltiere gegenüber den im Dunkeln gehaltenen ist auf dem 5 %-Niveau nicht signifikant, jedoch liegt die Differenz mit $R = 0,05261$ an der Grenze zur Signifikanz. Die in der Tabelle angegebenen Überlebensraten von Kontrolltieren und mit Sulfonamiden behandelten Ratten können nicht direkt verglichen werden, da letztere in der Statistik nicht berücksichtigt wurden, wenn die Kontrolltiere der Versuchsgruppe gestorben waren.

Die verzeichnete Anzahl der Tiere stellt jeweils einen Ausgangswert dar. In mehreren Fällen wurden die Prozentangaben mit fortgeschrittener Versuchsdauer aus einer kleineren Tierzahl berechnet, da wir einige Versuche nach weniger als vier Tagen abbrachen. So erklärt sich auch der scheinbar paradoxe Anstieg der Überlebensrate der bestrahlten, mit 600 mg/kg Durenat^R behandelten Ratten vom 3. zum 4. Tag, denn eine Gruppe, in der ein Tier gestorben war, wurde nur bis zum 3. Tag beobachtet. Die angegebene Zahl der unbestrahlten sulfonamidbehandelten Tiere insgesamt ist nach 24 Stunden kleiner als nach zwei Tagen, weil einige Ratten nach 24 Stunden nicht gewogen worden sind und daher zu diesem Termin aus der Statistik herausgenommen wurden.

Prozentuale Überlebensraten infantiler homozygoter Gunn-Ratten nach Sulfonamidbehandlung und Bestrahlung oder Haltung im Dunkeln. Die Injektionen sind durch Pfeile dargestellt.

Versuchsstufen		DUNKEL					BESTRAHLT				
		Beginn	24	48	72	96	Beginn	24	48	72	96
Kontrolltiere	n=47	100	100	93,6	78,3	60,5	n=48	100	100	97,8	90,9
DURENAT ^R											
600 mg/kg	n=13	100↓	100	61,5	30,8	23,1	n=11	100↓	100	90,9	81,8
GANTRISIN ^R											
1000 mg/kg	n=4	100↓	75	50	25	25	n=8	100↓	100	87,5	87,5
2x600 mg/kg	n=3	100↓	100	100↓	-	0	n=4	100↓	100	100↓	100
600 mg/kg	n=13	100↓	100	100	93,2	81,8	n=11	100↓	100	100	100
MADRIBON ^R											
2x600 mg/kg	n=4	100↓	-	0			n=4	100↓	100	100↓	100
600 mg/kg	n=13	100↓	38	0			n=11	100↓	100	87,5	66,7
3x300 mg/kg	n=3	100↓	-	33,3↓	33,3↓	0	n=3	100↓	100↓	100↓	100
2x300 mg/kg	n=21	100↓	80,9	66,7	47,6	26,3	n=12	100↓	100	100↓	100
300 mg/kg	n=13	100↓	92,3	46,1	10	0	n=13	100↓	100	92,3	60
200 mg/kg	n=3	100↓	100	66,7	33,3	33,3	n=3	100↓	100	100	66,7
100 mg/kg	n=10	100↓	100	100	90	70	n=12	100↓	100	100	100
50 mg/kg	n=6	100↓	100	100	100	100	-				
Sulfonamidbehandelte Tiere insgesamt	n=106	100	85,4	62,6	45,2	32,6	n=92	100	95,5	90,8	88,7
Verhältnis überlebende : behandelte Tiere			82 96	62 99*	42 93	30 92		92 92	85 89	69 76	63 71

* Erklärung für die gegenüber dem Vortrag größere Fallzahl im Text.

Die Abb. 1 - 7 zeigen den durchschnittlichen Gewichtszuwachs der Versuchs- und Kontrolltiere. Die in Gramm angegebenen Mittelwertdifferenzen wurden jeweils von identischen Tieren gebildet. Auf diese Weise ließen sich Verfälschungen des Ergebnisses vermeiden, die durch den Tod einer Ratte mit extremen Werten entstanden wären. Die Tatsache, daß der Gewichtszuwachs gewöhnlich nicht linear verläuft, sondern eher einer logarithmischen Funktion folgt, beeinträchtigt die Vergleichbarkeit der Kurven nicht, da die mittleren Ausgangsgewichte aller Gruppen (ca. 9 bis 12 g) nahe beieinanderliegen. Nur für zwei in Abb. 6 dargestellte Gruppen gilt das nicht. Der mittlere Gewichtszuwachs der Kontrolltiere ist nach 4 Tagen in der im Licht und der im Dunkeln gehaltenen Gruppe praktisch gleich (Abb. 1). Die Zeichnungen machen deutlich, daß sich die Gunn-Ratten, denen Sulfonamide injiziert worden sind, unter blauem Licht grundsätzlich besser entwickeln als im Dunkeln (Abb. 2, 3, 4, 5, 6, 7). Lediglich bei den mit Durenat^R behandelten Tieren (Abb. 3) besteht am 4. Tag eine Ausnahme. Sie ist jedoch nur durch zwei Ratten belegt, und die Differenz zwischen bestrahlten und unbestrahlten Tieren ist nicht signifikant. Bemerkenswert ist die Korrelation zwischen Medikamentendosis und Retardierung der Gewichtsentwicklung. Bei geringer Dosierung (Abb. 2, 4 und 6) weisen die bestrahlten Tiere gar keine Wachstumsverlangsamung gegenüber den Kontrolltieren auf. Der Gewichtszuwachs ist bei Tieren, die 1 x 600 mg/kg Madribon^R erhalten haben, nach 4 Tagen aufgrund starken Aufholwachstums größer als bei solchen, denen 2 x 300 mg/kg Madribon^R verabreicht worden ist. Abb. 6 beweist die stärkere Beeinträchtigung primär kleiner Ratten durch Sulfonamide. Die mit 300 mg/kg Madribon^R behandelten Tiere haben im Mittel ungewöhnlich niedrige Ausgangsgewichte (8,5 g) und entwickeln sich wesentlich schlechter als die anfangs etwa 3 g schwereren Tiere, denen 2 x 300 mg/kg Madribon^R injiziert worden ist. Auch die Absterberate dieser kleinen Ratten ist, wie man aus Tab. 1 ersehen kann, unverhältnismäßig groß. Die initial mit ca. 18 g besonders schweren, mit 200 mg/kg Madribon^R behandelten Ratten hingegen haben bestrahlt nach 4 Tagen stärker an Gewicht zugenommen als die Kontrolltiere.

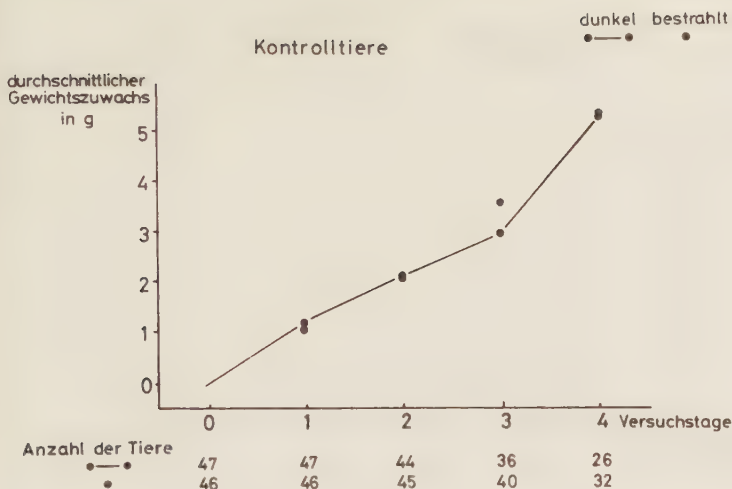


Abb. 1 Durchschnittlicher Gewichtszuwachs bestrahlter und unbestrahlter homozygoter Gunn-Ratten.

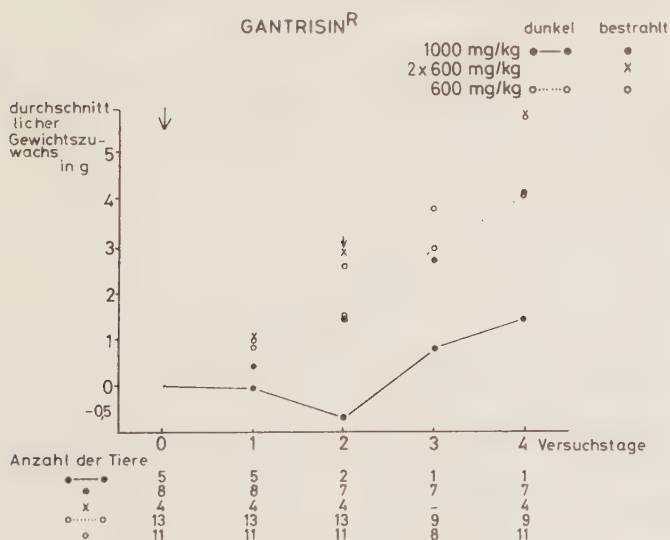


Abb. 2 Durchschnittlicher Gewichtszuwachs bestrahlter und unbestrahlter homozygoter Gunn-Ratten nach Behandlung mit Gantrisin. Die Injektionen sind durch Pfeile gekennzeichnet.

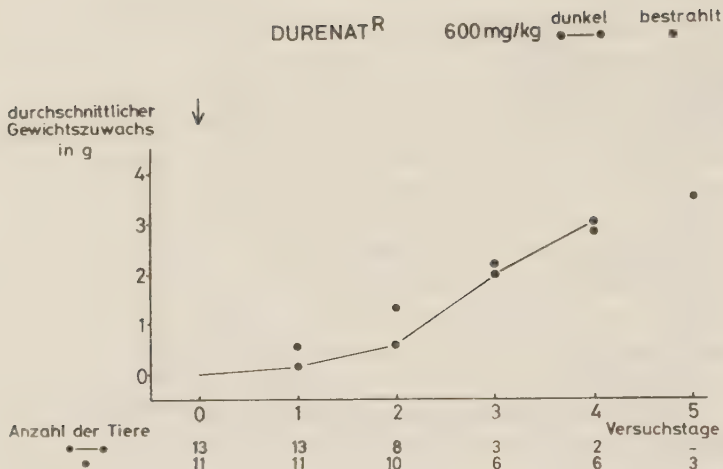


Abb. 5 Durchschnittlicher Gewichtszuwachs bestrahlter und unbestrahlter homozygoter Gunn-Ratten nach Behandlung mit Durenat^R. Der Pfeil gibt den Zeitpunkt der Injektion an.

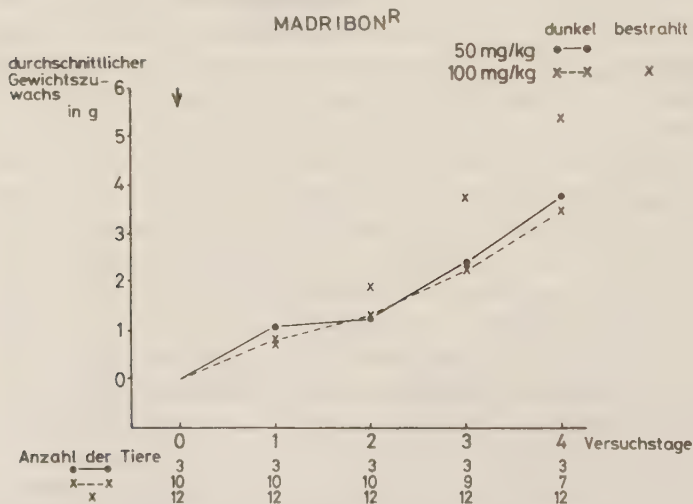


Abb. 4 Durchschnittlicher Gewichtszuwachs bestrahlter und unbestrahlter homozygoter Gunn-Ratten nach Behandlung mit Madribon^R. Der Pfeil gibt den Zeitpunkt der Injektion an.

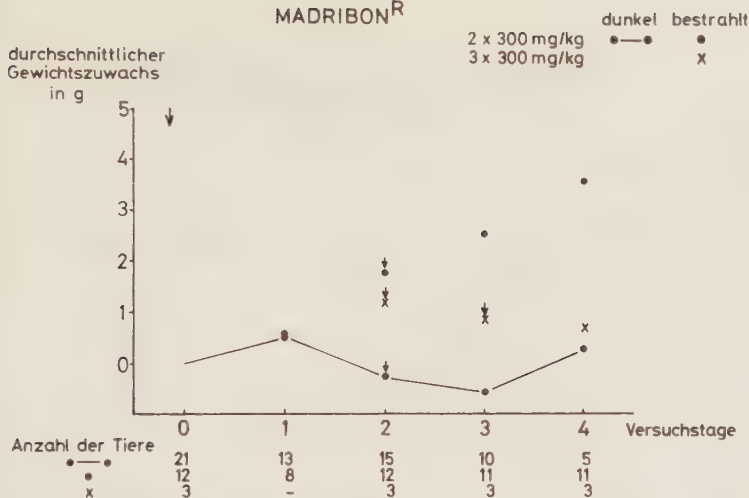
MADRIBON[®]

Abb. 5 Durchschnittlicher Gewichtszuwachs bestrahlter und unbestrahlter homozygoter Gunn-Ratten nach Behandlung mit Madribon^R. Die Injektionen sind durch Pfeile gekennzeichnet.

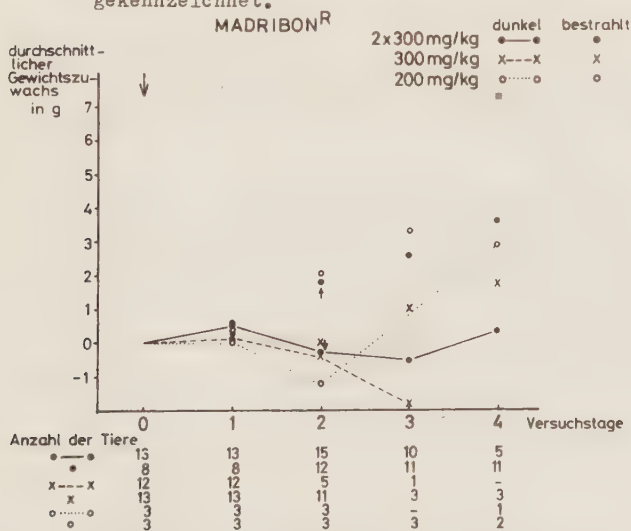


Abb. 6 Durchschnittlicher Gewichtszuwachs bestrahlter und unbestrahlter homozygoter Gunn-Ratten nach Behandlung mit Madribon^R. Die Injektionen sind durch Pfeile gekennzeichnet. Die mittleren Ausgangsgewichte der einzelnen Gruppen sind sehr unterschiedlich. Siehe Text!

Tabelle 2

Gewichtszunahme unbestrahlter und bestrahlter
Tiere in Gramm innerhalb von 4 Tagen

		DUNKEL	BESTRAHLT
Kontrolltiere		5,32 $\pm$ 2,54 t = 0,13435 P > 0,50	5,40 $\pm$ 1,94
DURENAT ^R	600 mg/kg	3,00 $\pm$ 2,29 t = 0,085 P > 0,25	2,83 $\pm$ 2,48
GANTRISIN ^R	1000 mg/kg	1,44 t = 1,1165 P < 0,25	4,22 $\pm$ 2,33
GANTRISIN ^R	2x600 mg/kg	$\pm$	5,95 $\pm$ 1,00
GANTRISIN ^R	600 mg/kg	4,17 $\pm$ 2,65 t = 1,658 P < 0,10	5,91 $\pm$ 1,94
MADRIBON ^R	2x600 mg/kg	$\pm$	- 1,84 $\pm$ 1,11
MADRIBON ^R	600 mg/kg	$\pm$	4,79 $\pm$ 1,83
MADRIBON ^R	3x300 mg/kg	$\pm$	0,71 $\pm$ 4,08
MADRIBON ^R	2x300 mg/kg	0,31 $\pm$ 3,87 t = 2,1038 P < 0,05	3,59 $\pm$ 2,44
MADRIBON ^R	300 mg/kg	$\pm$	1,72 $\pm$ 0,53
MADRIBON ^R	200 mg/kg	2,85 t = 9,760 P < 0,05	7,33 $\pm$ 0,374
MADRIBON ^R	100 mg/kg	3,46 $\pm$ 2,30 t = 2,482 P < 0,05	5,36 $\pm$ 1,05
MADRIBON ^R	50 mg/kg	3,78 $\pm$ 1,86	-

Die unterschiedliche Gewichtsentwicklung bestrahlter und unbe-
strahlter Tiere darf, wie man sieht, für die Kontrolltiere und
die mit Durenat^R behandelten Ratten nicht als signifikant angesehen
werden. Auch bei den mit 1 000 mg/kg Körpergewicht Gantrisin^R ge-
testeten Tieren ist die Irrtumswahrscheinlichkeit mit $P < 0,25$
noch recht groß. In allen übrigen Versuchsgruppen ist der Gewichts-
zuwachs bestrahlter Ratten jedoch auf dem 5-bzw. 10 %-Niveau
signifikant größer. [Die Dosierung der Sulfonamide wurde von
Toxizitätstests abhängig gemacht, die an heterozygoten, 3 bis 6
Tage alten Gunn-Ratten durchgeführt worden sind, da bei ihnen die
Interaktion zwischen Medikamenten und Bilirubin-Albuminkomplex
keine wesentliche Rolle spielt. So konnte in den Hauptversuchen,
in denen wir als maximale Einzeldosis 55 - 75 % der Dosis letalis
50 % verwendeten, die besondere Toxizität der Sulfonamide für
homozygote hyperbilirubinämische Tiere besser verdeutlicht werden.
Ein Vergleich der gewonnenen LD_{50} -Werte mit solchen aus der Lite-
ratur zeigt für das Gantrisin^R (Sulfisoxazol) eine gute Überein-
stimmung. Die eigenen Werte der mittleren Letaldosen der beiden
anderen Sulfonamide liegen jedoch erheblich unter den in der Lite-
ratur angegebenen. Dies ist vermutlich auf die relative Unreife
von Leber und Nieren der infantilen Gunn-Ratten zurückzuführen.
In Tab. 3 sind außerdem die für neugeborene Kinder pro Kilogramm
Körpergewicht empfohlenen Tagesdosen und das Verhältnis der den
Tieren maximal injizierten Mengen zu diesen Dosen angegeben.

Die mittleren Serumbilirubinkonzentrationen von Kontrolltieren
und von sulfonamidbehandelten Ratten nach Haltung im Dunkeln bzw.
Lichtexposition sind in den Abbildungen 8 - 10 in Prozent des Aus-
gangswertes dargestellt.

Das Bilirubin der im Dunkeln gehaltenen Kontrolltiere steigt
während des Versuchs aufgrund von Stress, Milieuwechsel, schlecht-
tem Säugen, vermehrter Perspiratio insensibilis, Exsikkose zu-
nächst an und erreicht erst nach etwa 48 Stunden wieder den Aus-
gangswert (Abb. 8). Die Bilirubinkonzentration bestrahlter
Kontrollratten hingegen ist bereits nach 3 Stunden um gut 7 %

Tabelle 3

Mittlere Letaldosis und Angaben zur
Dosierung der verwendeten Sulfonamide

	LD ₅₀ für 3 - 6 Tage alte heterozygote Gunn-Ratten	LD ₅₀ -Angaben aus der Literatur	Für Neugeborene pro kg Körperge- wicht empfohlene Tagesdosis	Maximale Einzeldosis, die homozygoten Gunn- Rattenbabies s.c. injiziert wurde	Verhältnis von maxi- maler Einzeldosis zur klin. empfohlenen Tagesdosis
DURENAT ^R	1100 mg/kg s.c.	2100-3000 mg/kg i.p. (erwachsene Ratten) Schering Forschungs- laboratorien	20 mg	600 mg	30
GANTRISIN ^R	1300 mg/kg s.c.	1095 ± 130 mg/kg p.o. (neugeborene Ratten) Hoffmann-La Roche Forschungslabora- torien	200 mg	1000 mg	5
MADIBON ^R	1000 mg/kg s.c.	4000 mg/kg p.o. (erwachsene Ratten) Hoffmann-La Roche Forschungslaboratorien	20 mg	600 mg	30

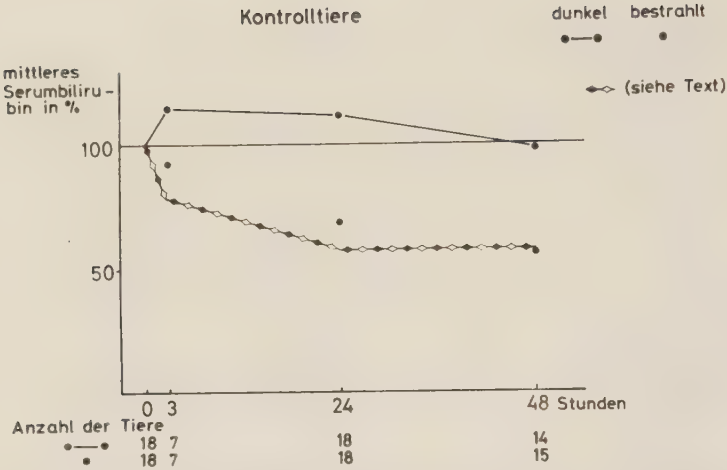


Abb. 8 Mittleres Serumbilirubin bestrahlter und unbestrahlter homozygoter Gunn-Ratten in Prozent des Ausgangswertes. Die durch schwarze und weiße Rhomben markierte hypothetische Kurve ergibt sich durch Subtraktion der Abweichung unbestrahlter Tiere vom Ausgangswert von der Kurve bestrahlter Tiere. Weitere Erklärungen siehe Text!

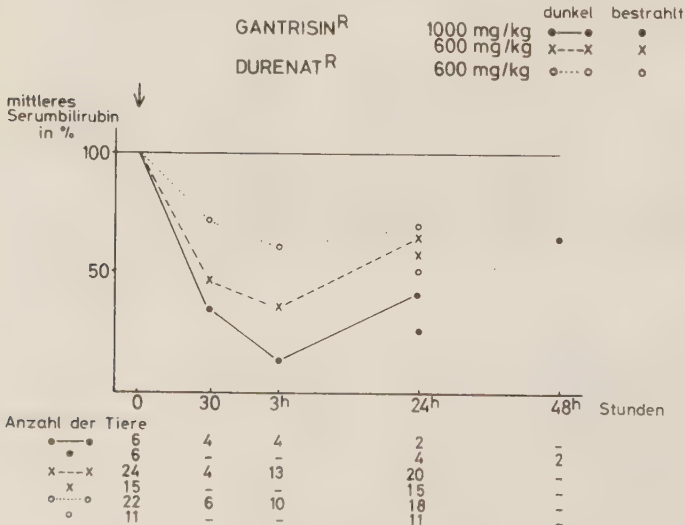


Abb. 9 Mittleres Serumbilirubin bestrahlter und unbestrahlter homozygoter Gunn-Ratten in Prozent des Ausgangswertes nach Behandlung mit Gantrisin^R bzw. Durenat^R. Die Skalierung der Zeitachse ist nicht linear.

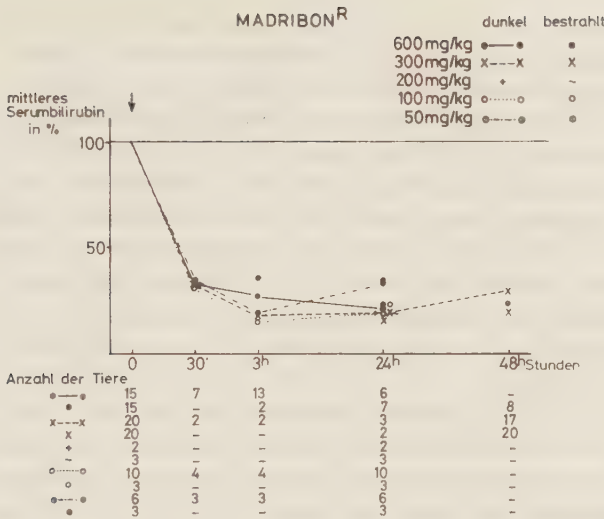


Abb. 10 Mittleres Serumbilirubin bestrahlter und unbestrahlter homozygoter Gunn-Ratten in Prozent des Ausgangswertes nach Behandlung mit Madribon^R. Die Skalierung der Zeitachse ist nicht linear.

gesunken und verringert sich dann langsamer bis auf ca. 56 % des Initialwertes nach 48 Stunden. Durch weitere Blaulichtbehandlung läßt sich der Bilirubinspiegel kaum noch senken (hier nicht dargestellt). Da bestrahlte Tiere während des Versuchs vermutlich ebenso wie unbestrahlte durch Stress zunächst exsikkotisch werden, wurde die Abweichung der im Dunkeln gehaltenen Kontrolltiere vom Ausgangswert von der Kurve der bestrahlten Kontrollratten subtrahiert und so die durch schwarze und weiße Rhomben markierte hypothetische Kurve gewonnen. Bereits nach 24 Stunden scheint sich für das Serumbilirubin ein Gleichgewicht eingestellt zu haben. Die Verringerung der Bilirubinkonzentration nach Ablauf von 24 Stunden wäre somit nur darauf zurückzuführen, daß sich die anfängliche Exsikkose und Hämokonzentration zurückbilden und das vorhandene Pigment jetzt wieder in größeren Kompartimenten verteilen kann.

von 1961, die Färbung des Urins durch Verdrängung des Bilirubins aus dem Albuminbindung und Diffusion in extravasale Flüssigkeiten verursacht durch den erwartungsgemäß dosisabhängigen Effekt, der durch Dosis von 100 mg/kg Madrison⁵ ausgetriggert als Wasser⁵, welches eine geringere Affinität zum Albumin aufweist. Diese Verdrängung wirkt - zumindest nach Ablauf von 24 Stunden - eine weitere Senkung des Bilirubinpiegels hervorgerufen. Nach intravenöser Madrison⁵ wird innerhalb von 30 Minuten eine sehr starke Hematobilirubinverringern bewirkt, die bei Dosen zwischen 2 und 100 mg/kg Körpergewicht etwa gleich groß ist, mit der Wirkung von 1.000 mg/kg Körpergewicht Madrison⁵ entspricht. Die LD_{50} -Schwermere für 10 - 500 mg/kg Madrison⁵ liegt nach intravenöser und oralen ebenfalls bei 1.000 mg/kg Madrison⁵ ermittelt wird. Nach 24 Stunden ist der Bilirubinwert bei den meisten Tieren (abgesehen von der Gruppe, die 20 mg/kg Madrison⁵ erhalten), dosisabhängig, obwohl die Werte für die verschiedenen Dosen nur sehr gering differieren. Die im Dunkeln gehaltenen Satten weisen, außer den mit 10 mg/kg behandelten, nur geringfügige Konzentrationssteigerungen des Bilirubins auf. Die Daten der mit 20 mg/kg Madrison⁵ behandelten Satten fallen aus der Reihe: die Bilirubin-Konzentration der restriktiven Satten liegen über denen der unrestriktiven und sind höher als die der Tiere, welche keine Medikamentendosen erhalten haben. Ob die Ursache in einer allgemeinen Verminderung der Vitalität und der Stoffwechselgeschwindigkeit durch die hohen Galliummethoxyindolen, die im Dunkeln bei allen Tieren nach spätestens zwei Tagen zum Tode führen, in einer Veränderung hepatischer oder renalier Funktionen, einem allosterischen Effekt am Albuminmolekül oder sonders liegen, ist aus den vorliegenden Daten nicht zu entscheiden.

Die stärkste dosisabhängige Verdrängung des Bilirubins aus dem Albumin bindung und Diffusion in extravasale Flüssigkeiten verursacht durch den erwartungsgemäß dosisabhängigen Effekt, der durch Dosis von 100 mg/kg Madrison⁵ ausgetriggert als Wasser⁵, welches eine geringere Affinität zum Albumin aufweist. Diese Verdrängung wirkt - zumindest nach Ablauf von 24 Stunden - eine weitere Senkung des Bilirubinpiegels hervorgerufen. Nach intravenöser Madrison⁵ wird innerhalb von 30 Minuten eine sehr starke Hematobilirubinverringern bewirkt, die bei Dosen zwischen 2 und 100 mg/kg Körpergewicht etwa gleich groß ist, mit der Wirkung von 1.000 mg/kg Körpergewicht Madrison⁵ entspricht. Die LD_{50} -Schwermere für 10 - 500 mg/kg Madrison⁵ liegt nach intravenöser und oralen ebenfalls bei 1.000 mg/kg Madrison⁵ ermittelt wird. Nach 24 Stunden ist der Bilirubinwert bei den meisten Tieren (abgesehen von der Gruppe, die 20 mg/kg Madrison⁵ erhalten), dosisabhängig, obwohl die Werte für die verschiedenen Dosen nur sehr gering differieren. Die im Dunkeln gehaltenen Satten weisen, außer den mit 10 mg/kg behandelten, nur geringfügige Konzentrationssteigerungen des Bilirubins auf. Die Daten der mit 20 mg/kg Madrison⁵ behandelten Satten fallen aus der Reihe: die Bilirubin-Konzentration der restriktiven Satten liegen über denen der unrestriktiven und sind höher als die der Tiere, welche keine Medikamentendosen erhalten haben. Ob die Ursache in einer allgemeinen Verminderung der Vitalität und der Stoffwechselgeschwindigkeit durch die hohen Galliummethoxyindolen, die im Dunkeln bei allen Tieren nach spätestens zwei Tagen zum Tode führen, in einer Veränderung hepatischer oder renalier Funktionen, einem allosterischen Effekt am Albuminmolekül oder sonders liegen, ist aus den vorliegenden Daten nicht zu entscheiden.

zwischen 3 und 24 Stunden nur bei einer Dosis von 50 mg/kg deutlich auf den Pigmentspiegel aus. Bei höherer Dosierung sind nach 24 und selbst nach 48 Stunden noch Sulfonamidmengen vorhanden, die eine nahezu maximale Verdrängung des Bilirubins bewirken. Offensichtlich steigt die Serumbilirubinkonzentration nur sehr langsam wieder an. Als Erklärung könnte angeführt werden, daß Madribon^R im Gegensatz zum Durenat^R, das beim Menschen eine vergleichbare Halbwertszeit hat, normalerweise zu einem sehr hohen Prozentsatz als Glukuronid ausgeschieden wird, und die von uns behandelten Gunn-Ratten eine sehr stark verringerte Glukuronidierungsfähigkeit aufweisen.

Um zu beurteilen, ob die beobachteten Ergebnisse auf die getesteten Medikamente selbst oder auf die in den handelsüblichen Sulfonamidampullen enthaltenen Hilfsstoffe zurückzuführen sind, wurden letztere isoliert hinsichtlich ihrer Toxizität und ihres Einflusses auf das Serumbilirubin geprüft. Folgende Substanzen sind in einem ml Sulfonamidlösung enthalten:

MADRIBON ^R	Diäthanolamin 4,2 mg Natriummetabisulfit 0,5 mg NaOH 13,0 mg Wasser zu Injektionszwecken 1 000 µl
DURENAT ^R	Na ₂ -EDTA 0,25 mg Wasser zu Injektionszwecken
GANTRISIN ^R	Natriumpyrosulfit 0,5 mg Diäthanolamin ad pH 7,7 q.s. Wasser zu Injektionszwecken

In den handelsüblichen Ampullen befinden sich pro ml folgende Sulfonamidmengen:

MADRIBON ^R	100 mg Sulfadimethoxin
DURENAT ^R	100 mg Sulfamethoxydiazin
GANTRISIN ^R	400 mg Sulfisoxazol

Als mittlere Letaldosis wurden für die Hilfsstoffe des Madribon^R etwa 0,015 ml/g Körpergewicht an heterozygoten Rattenbabies ermittelt. Die Hilfsstoffe des Gantrisin^R und des Durenat^R, die sich aus technischen Gründen nur bis zu maximal 0,04 ml/g dosieren

lassen, wurden von allen Ratten überlebt - die des Durenat^R, allerdings bei einer Na-EDTA-Konzentration von 0,1 mg/ml, auch von homozygoten Tieren. Mit der höchsten während der Hauptversuche verwendeten Dosis von 600 mg/kg Madribon^R werden 0,006 ml/g Hilfsstoffe mitinjiziert. Eine derartige Stabilisatormenge wird zwar von allen heterozygoten Tieren toleriert, macht jedoch immerhin rund 40 % der LD₅₀ aus. Die mit der maximalen Gantrisin^R-Dosis (1 000 mg/kg) verabreichte Hilfsstoffmenge von 0,0025 ml/g dürfte aufgrund der geringen Toxizität die Letalität der Ratten ebenso wenig beeinflussen wie die 0,006 ml/g der Stabilisatorlösung, die mit 600 mg/kg Durenat^R injiziert werden.

Die Wirkung der Hilfsstoffe auf die Serumbilirubinkonzentration homozygoter Gunn-Ratten ist in den Abbildungen 11 und 12 dargestellt ⁺⁾ . Die Kurven im Dunkeln gehaltener Tiere der Abb. 11 sind denen von Kontrollratten vergleichbar, die keine Medikation erhalten haben. Der etwas stärkere Bilirubinanstieg ist wahrscheinlich nicht auf eine spezifische Wirkung der Hilfsstofflösungen zurückzuführen, sondern auf eine Verstärkung der für die Kontrolltiere bereits beschriebenen versuchsbedingten Stressreaktionen, denn der Effekt entspricht der injizierten Lösungsmenge trotz unterschiedlicher Inhaltsstoffe und läßt sich durch Gabe von 0,9 %iger NaCl-Lösung in ähnlicher Form erreichen. Auffällig ist allerdings, daß das Bilirubin im Gegensatz zu dem der Kontrolltiere zwischen 3 und 24 Stunden noch leicht ansteigt. Die in Durenat^R-Ampullen in einer Konzentration von 0,25 mg/ml enthaltene Puffersubstanz Na-EDTA wurde aus technischen Gründen auf 0,1 mg/ml verdünnt injiziert. Abb. 12 zeigt die Bilirubinkurve von Dunkeltieren nach Gabe von 0,04 ml/g dieser Lösung. Der Kurvenverlauf entspricht dem der beiden anderen getesteten Hilfsstofflösungen, wenn man von einem geringfügigen Bilirubinabfall nach 3 Stunden absieht. Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Hilfsstoffe im Gegensatz zu dem Inhalt der Sulfonamidampullen (Wirkstoff und Hilfsstoffe) praktisch keine Verringerung des Serumbilirubins,

⁺⁾ Die Abbildungen sind der Inauguraldissertation von H.J. Schmid (67) entnommen.

STAB - MADRIBON^R 0,01 ml/g
STAB - GANTRISIN^R 0,04 ml/g

dunkel bestrahlt

•—• •

x---x x

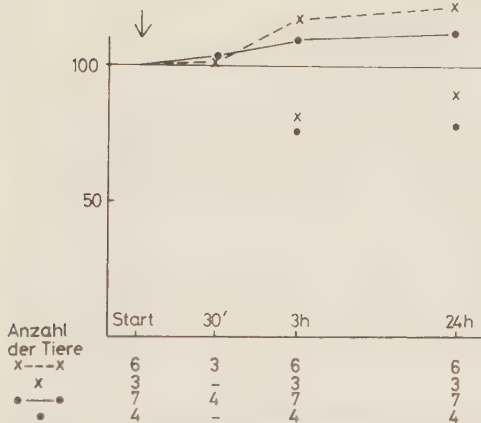


Abb. 11 Mittleres Serumbilirubin bestrahlter und unbe-
strahlter homozygoter Gunn-Ratten in Prozent des
Ausgangswertes nach Behandlung mit den Hilfsstoff-
lösungen, die in Ampullen von Madribon^R bzw.
Gantrisin^R enthalten sind.

Na₂-EDTA

0,1 mg/ml - 0,04 ml/g

dunkel

•—•

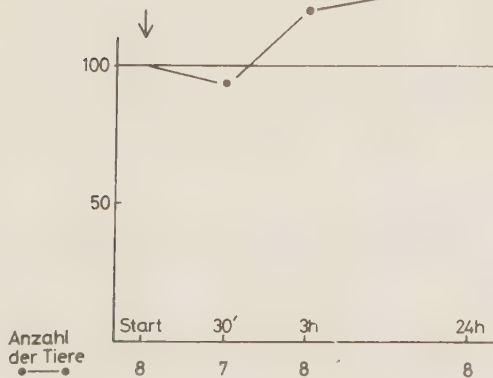


Abb. 12 Mittleres Serumbilirubin unbestrahlter homozygoter
Gunn-Ratten in Prozent des Ausgangswertes nach Be-
handlung mit Na₂-EDTA, das in Ampullen von Durenat^R
als Puffersubstanz enthalten ist.

d. h. keine Verdrängung des Pigmentes aus der Albuminbindung bewirken. Unsere Versuchsergebnisse sind also auf die Sulfonamide selbst zu beziehen.

Der Hämatokrit der Versuchs- und Kontrolltiere ist nach Medikation, Lichtexposition und Zeitpunkt der Bestimmung aufgegliedert in Tab. 4 wiedergegeben. Die Daten sind jeweils in Prozent des Ausgangswertes angegeben, um angesichts der zu Versuchsbeginn recht stark schwankenden mittleren Hämatokritwerte eine bessere Vergleichbarkeit zu gewährleisten. Allen in der Tabelle berücksichtigten Tieren wurde nur zweimal Blut entnommen. Bei der Bewertung der Daten ist aber zu bedenken, daß der Blutverlust pro Untersuchung fast 0,08 ml betrug - ein Volumen, welches bei 10 g schweren Ratten immerhin rund 10 % der Gesamtblutmenge ausmacht. Die Hämatokritwerte der Kontrolltiere und der mit Durenat^R oder Gantrisin^R behandelten Ratten liegen in den bestrahlten Gruppen geringfügig über denen der unbestrahlten. Nur der 48-Stundenwert der Kontrolltiere bildet eine Ausnahme. Nach Gabe von Madribon^R haben die bestrahlten Ratten nicht generell höhere Werte als die im Dunkeln gehaltenen. Der Hämatokrit der Kontrollratten ist nach 24 Stunden in der bestrahlten Gruppe immer und in der unbestrahlten überwiegend höher als bei den mit Sulfonamiden getesteten Tieren. Die Unterschiede zwischen lichtexponierten und unbestrahlten Ratten wurden mit dem zweiseitigen STUDENT-Test auf dem 5 %-Niveau geprüft. Dabei erwiesen sich lediglich die Differenzen der mit 1 000 mg/kg Gantrisin^R und der mit 100 mg/kg Madribon^R behandelten Gruppen nach 24 Stunden als signifikant.

Die Kleinhirne mehrerer sulfonamidbehandelter Ratten wurden mit histochemischen Methoden mit Hilfe der Aktivitäten der oxydativen Enzyme Laktatdehydrogenase (LDH), Sukzinatdehydrogenase (SDH) und NADH₂-Reduktase (NADH₂-R) auf die Vitalität ihrer Purkinjezellen von Dr. Hanefeld untersucht. Die Purkinjezellpopulation bestrahlter Tiere, die unmittelbar nach dem Versuch getötet wurden, war gewöhnlich nur geringfügig verringert, während unbestrahlte Ratten erhebliche Schädigungen aufwiesen (Tab. 5).

Tabelle 4

Hämatokrit in Prozent des Ausgangswertes
und Stichprobenumfang

Versuchsdauer	vor		30 min	3 h	24 h	48 h	
Kontrolltiere	100			90 (n=8)	87 (n=21)	96 (n=13)	dunkel
	100			91 (n=7)	93 (n=22)	91 (n=14)	bestrahlt
DURENAT ^R 600 mg/kg	100	84 (n=6)		85 (n=3)	85 (n=12)		dunkel
	100				87 (n=11)		bestrahlt
GANTRISIN ^R 1000 mg/kg	100	97 (n=4)			62 (n=2)	62 (n=1)	dunkel
	100				74 (n=4)	83 (n=2)	bestrahlt
GANTRISIN ^R 600 mg/kg	100	83 (n=4)		86 (n=4)	82 (n=13)		dunkel
	100			87 (n=2)	87 (n=13)		bestrahlt
MADRIBON ^R 600 mg/kg	100	87 (n=7)		87 (n=6)	81 (n=2)		dunkel
	100			95 (n=2)	89 (n=5)	99 (n=8)	bestrahlt
MADRIBON ^R 300 mg/kg	100	85 (n=3)			90 (n=2)	102 (n=15)	dunkel
	100				84 (n=2)	102 (n=17)	bestrahlt
MADRIBON ^R 200 mg/kg	100				72 (n=3)		dunkel
	100				89 (n=3)		bestrahlt
MADRIBON ^R 100 mg/kg	100	94 (n=4)			88 (n=6)		dunkel
	100				78 (n=6)		bestrahlt

Tabelle 5

Purkinjezellzahl bestrahlter und unbestrahlter homozygoter Gunn-Ratten nach Gabe von Madribon^R.

N = normale Purkinjezellpopulation, (-) = fraglicher,

- = leichter, -- = starker Purkinjezellverlust.

		N	(-)	-	--	
MADRIBON ^R						
100 - 300 mg/kg	n= 6	-	-	2	4	DUNKEL
	n=19	1	14	-	4	BESTRAHLT

Bei wiederholt sulfonamidbehandelten Tieren, die im Anschluß an die Bestrahlungsversuche 1 Jahr lang unter konventionellen Bedingungen gehalten wurden, sind die Verhältnisse keineswegs mehr so eindeutig. Die Purkinjezellverluste unbestrahlter und bestrahlter Ratten unterscheiden sich nicht erheblich. Die Kleinhirne lichtbehandelter Ratten sind meistens größer und das mittlere Körpergewicht liegt bei gleicher Geschlechtsverteilung mit $343,6 \pm 166,6$ g erheblich über dem unbestrahlter Tiere von $285,4 \pm 114,7$ g. Zwischen Kleinhirngröße und Purkinjezellverlust scheint ein reziprok proportionales Verhältnis vorzuliegen, das sich aber wegen der geringen Fallzahl von 9 bestrahlten und 5 unbestrahlten Tieren nicht sicher beweisen läßt.

Die Autopsien, welche an 91 mit Sulfonamiden behandelten Tieren durchgeführt wurden, zeigen eindeutige Unterschiede zwischen bestrahlten und unbestrahlten Ratten. Madribon^R war den untersuchten Ratten in Einzeldosen von 300 oder 600 mg/kg maximal drei- bzw. zweimal injiziert worden. 25 der 27 unbestrahlten Tiere wiesen bei der Obduktion einen Kernikterus auf. Die Kleinhirne und Colliculi inferiores erschienen äußerlich diffus gelb, und in drei Fällen waren auch die Großhirnunterseiten tingiert. Bei den bestrahlten Ratten hingegen wurde nur bei einer von 30 Untersuchungen ein Kernikterus gefunden. Die Unterseite des Groß-

hirns des betroffenen Tieres, welches 3 x 300 mg/kg Madribon^R erhalten hatte, erwies sich ebenfalls als gelb gefärbt. Haut und Fettgewebe bestrahlter Ratten war nur in drei Fällen gelb, während bei allen 27 unbestrahlten Tieren eine Pigmentierung vorlag. Die stärksten Verfärbungen sah man nach den höchsten Sulfonamidoosen. Die Därme aller im Dunkeln gehaltenen Tiere waren - meist intensiv - gelb. Bei den bestrahlten Ratten hingegen fand man die Därme ockerfarben. Gelegentlich waren sie proximal von Milch weiß. Sehr selten sah man eine Beimischung brauner oder grüner Komponenten ^{*)}.

Die Ratten, welche nach Behandlung mit Gantrisin^R seziert wurden, hatten ein- oder zweimal 600 mg/kg erhalten. Alle 7 bestrahlten Tiere hatten unauffällige Hirne und wiesen keine Verfärbung der Haut oder des Fettgewebes auf. Zwei der sechs unbestrahlten Ratten hatten im Hirn Bilirubin abgelagert, und zwar in einem Falle im Sinne eines Kernikterus, im anderen mehr diffus. Letzteres der Tiere fiel auch durch eine diffuse Gelbfärbung von Leber und Nieren und die Intensität der Pigmentierung des Fettgewebes auf. Haut und Fettgewebe der übrigen Ratten waren kaum stärker verfärbt als bei Kontrolltieren, die gleichfalls im Dunkeln gehalten wurden. Der Darm war gewöhnlich gelb und proximal teilweise weiß. Lediglich bei dem wegen diffuser Verfärbungen hervorgehobenen Tier hatte er ein orangefarbenes Aussehen. Bei den bestrahlten Ratten war der Darm ausnahmslos in den oberen Partien weiß oder hell und distal ockerfarben.

Die Gruppe der nach Gabe von Durenat^R seziierten Tiere hatte Dosen von 600 mg/kg Körpergewicht erhalten. Die lichtbehandelten 6 Ratten waren autoptisch hinsichtlich des Hirnes, der Haut- und Fettfarbe sowie der Nieren unauffällig. Die Hirne der vier unbestrahlten Tiere wiesen eine lokalisierte oder mehr diffuse und die Haut sowie das Fettgewebe eine recht intensive Gelbfärbung auf.

^{*)} Im Abschnitt VIII ist die Färbung der Därme nach der Medikation gegliedert in tabellarischer Form verzeichnet.

Der Darm wurde dunkelgelb oder orangefarben gefunden. Bei den bestrahlten Ratten war er wieder proximal weiß und distal ockerfarben.

Die Hirne der Kontrolltiere, die keine Medikation erhalten hatten, zeigten keine pathologischen Befunde. Die Haut und das Fettgewebe waren bei 14 lichtbehandelten Ratten nicht und bei den 11 unbestrahlten Tieren nur gering gelb tingiert. Auch bei den bestrahlten Kontrolltieren erschien der Darm in den oberen Abschnitten weiß oder hell und in den unteren ockerfarben. Bei den unbestrahlten Kontrollratten hingegen sah man etwa gleich häufig eine leicht gelbe und eine ockerfarbene Kolorierung.

Bei allen unseren Untersuchungen wurden Anzeichen einer Schädigung der Tiere durch die Phototherapie nur zweimal in Form von Konjunktivitiden gesehen, die nach zweitägiger Behandlung bei einem Muttertier und nach drei Tagen bei einem 10 Tage alten Rattenbaby auftraten. Die aus erwähnten Gründen besonders wichtige Frage, ob unter der Lichtbehandlung in Gegenwart von Sulfonamiden und Bilirubin photodynamische Reaktionen entstehen, muß aufgrund unserer Beobachtungen verneint werden. Es traten weder akute Symptome photodynamischer Reaktionen auf wie Dyspnoe, Tetanie, Rötung der Ohren, kräftiges Kratzen, unruhiges Umherrennen oder gar Schocktod, noch subakute Zeichen wie Nekrosen der Ohren und des Schwanzes oder Ödeme der Haut. Auch eine durch photodynamische Prozesse ausgelöste Hämolyse ist weitgehend ausgeschlossen, da die Hämatokritwerte bestrahlter Tiere gewöhnlich über denen unbestrahlter liegen.

VIII. DISKUSSION

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß die Phototherapie geeignet ist, die Risiken einer Sulfonamidbehandlung bei hyperbilirubinämischen infantilen Gunn-Ratten erheblich zu verringern. Die Sulfonamide dürfen als Beispiel stark eiweißgebundener Medikamente schlechthin angesehen werden. Bestrahlte Tiere zeichnen sich gegenüber unbestrahlten durch ~~wesentlich~~ kleinere Absterberaten, niedrigere Serumbilirubinkonzentrationen, bessere Gewichtsentwicklung sowie geringere Häufigkeit mikro- und makropathologischer Veränderungen aus. Auch neurologische Befunde lassen sich bei lichtbehandelten Ratten sehr viel seltener erheben und sind dann nicht so ausgeprägt wie bei unbestrahlten. Die Ursachen sind zweifellos ganz überwiegend im Photokatabolismus ^{und} der Beeinflussung des Metabolismus des Bilirubins durch die Phototherapie zu suchen.

Da freies Bilirubin schwer wasserlöslich ist, muß es im Blut konjugiert als Diglukuronid oder Monoglukuronid oder aber gebunden transportiert werden. Aus dem genetisch bedingten Mangel homozygoter Gunn-Ratten an UDP-Glukuronyltransferase resultiert eine fast vollständige Unfähigkeit, Glukuronide zu bilden. Der Defekt dürfte die relative Glukuronidierungsschwäche der noch nicht voll ausgereiften Lebern neugeborener Kinder übertreffen. Daher kommt dem Albumin, welches quantitativ nahezu als einziger Bindungspartner des Bilirubins zur Verfügung steht, bei den Ratten eine überragende Bedeutung als intravasalem Vehikel zu. Ist die Bindungskapazität des Albumins überschritten, so muß freies Bilirubin einem Konzentrationsgradienten folgend aus dem Intravasalraum herausdiffundieren und kann wegen seiner Lipoidlöslichkeit ins ZNS gelangen, wo es aufgrund seiner Neurotoxizität u. U. deletäre Folgen hervorruft. Von den Sulfonamiden und einer größeren Anzahl anderer Substanzen - vorwiegend organischer Anionen - ist bekannt, daß sie mit dem Bilirubin um die Bindung am Albumin konkurrieren und gemäß ihrer Affinität und Konzentration eine

Verdrängung des Bilirubins bewirken können. Entsprechende Untersuchungsergebnisse sind von KLOTZ et al. (39), ODELL (52, 53, 54), MARTIN (50), JOSEPHSON und FURST (38), MALAKA-ZAFIRIU und STRATES (48), SCHIFF et al. (66), STERN (82), WINDORFER jun. und MIHAILOVA (87) sowie WINDORFER jun. et al. (88) beschrieben worden. Sie bieten eine Erklärung für die massive Verringerung des Serumbilirubinspiegels der hyperbilirubinämischen Gunn-Ratten nach Sulfonamidinjektion. Die Abbildungen 9 und 10 zeigen, daß gleiche Mengen verschiedener Sulfonamide den Bilirubinspiegel in recht unterschiedlichem Maße senken. So wird bei einer Dosis von 600 mg/kg Körpergewicht die Serumbilirubinkonzentration innerhalb von 30 Minuten durch Durenat^R um ca. 27 %, durch Gantrisin^R um etwa 53 % und durch Madribon^R sogar um rund 66 % gesenkt. Da die Molekulargewichte der getesteten Medikamente sich nicht sehr wesentlich unterscheiden und somit jeweils annähernd gleiche Molekülzahlen injiziert worden sind, muß unter der Prämisse vergleichbarer Resorptionsgeschwindigkeiten und Organverteilungsquotienten (Gewebe : Serum) auf unterschiedliche Affinitäten zum Albumin geschlossen werden. In der Literatur fand ich leider nur den Organverteilungsquotienten für das Durenat^R, der mit 0,28 - 0,3 angegeben wird (WALTER und HEILMEYER (86)). Andere, von uns nicht untersuchte Sulfonamide weisen recht ähnliche Quotienten auf (Streubereich 0,25 bis 0,8). Sollten sich Madribon^R und Gantrisin^R vom Durenat^R hinsichtlich des Quotienten unterscheiden, so müßte man für sie danach eher höhere Werte, d. h. geringere Serumkonzentrationen, annehmen. Die Affinitäten der stärker bilirubinverdrängenden Medikamente Madribon^R und Gantrisin^R würden unter diesen Umständen die Bindefreudigkeit des Durenat^R somit noch stärker übertreffen als nach den Kurven des Bilirubinabfalls zu erwarten ist. Diese Überlegungen stehen im Einklang mit den Untersuchungen ODELLs (54), die beweisen, daß Sulfisoxazol (Gantrisin^R) bereits in klinisch gebräuchlichen Serumkonzentrationen Bilirubin aus der Eiweißbindung verdrängt und durch halbdurchlässige Membrane permeieren läßt, wohingegen von dem von uns nicht untersuchten Sulfadiazin wesentlich höhere molekulare Konzentrationen erforderlich sind, um den gleichen Effekt zu erzielen. Der prozentuale

Anteil freien Bilirubins und damit die Gefahr der Provokation eines Kernikterus wird aber schon durch eine geringe Verdrängung ganz wesentlich gesteigert, weil die Dissoziationskonstante des Bilirubins-Proteinkomplexes klein ist.

Die Versuche von JOSEPHSON und FURST (38), die in vitro selbst bei hohen Bilirubinkonzentrationen keine Beeinflussung der Eiweißbindung der Sulfonamide fanden, deuten auf die im Vergleich zum Bilirubin hohe Affinität der Sulfonamide zum Albumin hin. Die Feststellung, freies Bilirubin entstehe in normalen Sera erst, wenn die Sulfafurazolkonzentration 25 mg/100 ml und der Bilirubinspiegel 20 mg/100 ml übersteigen, trifft für unsere Untersuchungen sicherlich nicht zu. Die hypalbuminämischen Sera neugeborener Gunn-Ratten weisen gewiß geringere Bindungskapazitäten auf. So sieht man in der Abb. 9 z.B. eine massive Senkung des Pigmentspiegels nach 600 mg/kg Sulfafurazol (Gantrisin^R), obwohl das durchschnittliche Bilirubin anfangs bei nur etwa 8 mg/100 ml lag. Die verabreichte Dosis dürfte allerdings eine etwas höhere Sulfonamidkonzentration im Serum bewirken als die oben genannte.

Einen mit den Kurven der Abb. 9 und 10 gut korrelierenden Parameter zur Beurteilung der bilirubinverdrängenden Wirkung der Sulfonamide stellt die prozentuale Eiweißbindung dar, zumal das Bilirubin diese aufgrund seiner sehr viel geringeren Affinität zum Albumin praktisch nicht beeinflusst. Folgende von SCHOLTAN durch Dialyse mit normalen Sera gewonnenen Prozentwerte freien Sulfonamids, die für die von uns untersuchten Drogen dosisabhängig sind, finden sich bei WALTER und HEILMEYER (86):

Serumsulfonamidkonzentration/100 ml	2 mg	6 mg	10 mg	} % Sulfonamid
DURENAT ^R	15	25	30	
GANTRISIN ^R	-	16	18	
MADRIBON ^R	0,78	2,2	3,3	

Das am stärksten bilirubinverdrängende Madribon^R (Abb. 10) ist in geringen Konzentrationen im Plasma nahezu vollständig eiweißgebunden. Das Gantrisin^R nimmt hinsichtlich der Eiweißbindung und der Bilirubinwirkung (Abb. 9) eine Mittelstellung ein. Das Durenat^R, welches die schwächste Senkung des Bilirubinspiegels hervorruft (Abb. 9), ist am wenigsten eiweißgebunden. Trotzdem liegt auch bei diesem Medikament das Gleichgewicht weit auf Seiten des undissoziierten Sulfonamid-Eiweißkomplexes. Da sich der freie Anteil des Madribon^R trotz Vervielfachung der Serumkonzentration nur mäßig erhöht, darf man annehmen, daß die Sulfonamidbindungskapazität des Serumeiweißes bei den in der Tabelle angegebenen Höchstkonzentrationen noch nicht erschöpft ist. Für das Durenat^R ergeben sich schon recht erhebliche Veränderungen des prozentualen freien Anteils innerhalb der angeführten Konzentrationen. Allerdings übertreffen die in unseren Versuchen erzielten Serumkonzentrationen die in der Tabelle verzeichneten sicher um ein Mehrfaches. Mit jedem der Medikamente läßt sich vermutlich eine maximale Bilirubinverdrängung erreichen, die durch weitere Dosissteigerungen nicht mehr verstärkt werden kann. Für diesen Effekt ist vom Gantrisin^R eine Dosis von 1 000 mg/kg erforderlich (Abb. 9), während er sich mit dem sehr stark eiweißgebundenen Madribon^R bereits bei 50 mg/kg einstellt (Abb. 10).

Daß das Bilirubin nicht vollständig aus dem Plasma eliminiert werden kann, ist vermutlich in erster Linie auf den nicht albumin- gebundenen Anteil des Pigmentes zurückzuführen, denn auch α_1 -Globulin, α_2 -Globulin, eisenbindendes Globulin und β -Globulin sind in allerdings geringem Umfang in der Lage, Bilirubin zu transportieren (BARAC (7)). Außerdem verhindern womöglich eine begrenzte Diffusionsgeschwindigkeit und eine Aufsättigung extravasaler Kompartimente mit Bilirubin eine totale Verdrängung des Farbstoffes. Vielleicht spielt auch die Transportkapazität von Akzeptorproteinen zur zellulären Ein- und Durchschleusung des Bilirubins, die für die Leber in Form des Y- und Z-Proteins nachgewiesen worden sind, eine gewisse Rolle.

Ob Bilirubin und Sulfonamide ausschließlich an denselben Radikalen des Albumins gebunden werden und daher konkurrieren, oder ob auch in geringerem Umfang Bindungsorte vorhanden sind, für die keine Konkurrenz gilt, kann nicht entschieden werden, zumal kontroverse Auffassungen über Bindungstyp und -ort für das Bilirubin bestehen. So wird von ODELL, BROWN und HOLTZMANN (55) auf die Bedeutung der ionischen Bindung am Imidazolring des Histidins des Albuminmoleküls, das übrigens photosensibel sein soll, hingewiesen, während nach Auffassung von KRIEGLSTEIN (42) der hydrophobe Bindungstyp vorherrscht. KLOTZ (39) vermutet eine ionische Bindung zwischen den Säureradikalen der Sulfonamide und kationischen Aminogruppen des Albumins, und zwar vorwiegend der ϵ -Aminogruppen des Lysins. Denkbar ist auch, daß ein Sulfonamidmolekül ein oder beide am Albumin gebundenen Bilirubinmoleküle trotz unterschiedlicher Rezeptoren durch Änderung der Quartärstruktur des Eiweißes zur Dissoziation veranlaßt. Einen Hinweis auf solche allosterischen Wirkungen von Sulfonamiden am Albumin könnte die gegenüber kleineren Dosen verringerte Bilirubinverdrängung nach 600 mg/kg Madribon^R (Abb. 10) bieten.

Die Kurven des Serumbilirubins (Abb. 8 - 10) zeigen für die einzelnen Sulfonamide -nach dem massiven Abfall - ansteigende Schenkel unterschiedlicher Steilheit, die ein Maß für die Eliminationsgeschwindigkeit der Drogen sind. Erwartungsgemäß klingt die Wirkung des Kurzzeitsulfonamids Gantrisin^R am schnellsten wieder ab (Abb. 9). Die Halbwertszeit dieses Medikamentes wird für den Menschen in der Literatur mit 6 bis 10 Stunden und die Gesamtausscheidung mit 85 - 95 % in 36 bis 48 Stunden angegeben. Etwa 20 % werden als Glukuronide und 20 - 30 % in azetylierter Form eliminiert (87). Die Kurven lassen für die infantilen Gunn-Ratten eine längere Halbwertszeit vermuten, was angesichts ihres Enzymdefektes und der funktionellen Leberunreife durchaus verständlich ist. Aus der Parallelität der ansteigenden Schenkel der Kurven darf man auf eine konstante, von Dosis und Bestrahlung unabhängige Elimination schließen. Allerdings muß bedacht werden, daß aufgrund der starken Affinität des Gantrisin^R zur Eiweißbindung der

Wiederanstieg des Bilirubins gegenüber der Sulfonamidausscheidung erheblich verzögert sein kann.

Der Wiederanstieg des Bilirubins nach Behandlung mit dem Langzeitpräparat Durenat^R, dessen Halbwertszeit beim Menschen 48 bis 70 Stunden und Gesamtausscheidung in 3 Tagen 70 % betragen (87), geschieht langsamer (Abb. 9). Die anhaltendste Wirkung auf das Bilirubin verursacht das Madribon^R (Abb. 10). Zwar wird das Madribon^R bei einer Halbwertszeit von 35 - 53 Stunden und einer 80-%igen Gesamtausscheidung innerhalb von 3 Tagen normalerweise etwas schneller eliminiert als das Durenat^R, doch liegt der glukuronidierte Anteil des ausgeschiedenen Sulfonamids bei 80 - 85 % gegenüber 20 % beim Durenat^R (86). Es besteht der Verdacht, daß die Gunn-Ratten aufgrund ihres genetischen Defektes nicht oder nur begrenzt in der Lage sind, Madribon^R zu glukuronidieren. Die Toxizitätstests von YEARY (90) an Gunn-Ratten und nicht hyperbilirubinämischen SPRAGUE-DAWLEY-Ratten weisen darauf hin, wenn auch erwachsene Gunn-Ratten manche Substanzen zu glukuronidieren vermögen. Elimination und Bilirubinwiederanstieg haben selbst nach 48 Stunden nur ein geringes Ausmaß erreicht. Lediglich für die kleine Dosis von 50 mg/kg, die (wegen der hochgradigen Eiweißbindung) nach 3 Stunden noch eine nahezu maximale Bilirubinverdrängung bewirkt, reicht die Eliminationsgeschwindigkeit aus, nach 24 Stunden einen Wiederanstieg des Pigmentspiegels erkennen zu lassen.

Die Senkung des Bilirubinspiegels durch die Phototherapie ist am ausgeprägtesten bei den Kontrolltieren, die keine Medikation erhalten haben (Abb. 8). Bei den sulfonamidbehandelten Ratten, deren Serumbilirubin durch Verdrängung ohnehin schon stark verringert ist, läßt sich keine so starke Differenz zwischen bestrahlten und unbestrahlten Tieren erreichen (Abb. 9 und 10).

Die Ursachen des Bilirubinabfalls unter der Phototherapie sind - wie in den Abschnitten IV und V beschrieben - einerseits eine Photooxydation des Bilirubins (4, 5, 6, 9, 10, 15, 17, 20, 24, 27, 29, 31, 47, 77, 78) und andererseits eine Beeinflussung des Bilirubinmetabolismus, die an der erheblich gesteigerten Ausschleusung von Bilirubinderivaten, Photoprodukten und sogar einer großen Menge unkonjugierten Bilirubins aus den Hepatozyten in die Galle erkenntlich wird (59, 60, 61, 68, 70). Der normale Exkretionsprozeß unkonjugierten Bilirubins ist ein aktiver, energiekonsumierender Vorgang, der ein Transportmaximum aufweist und einen Engpaß des Bilirubinstoffwechsels darstellt. Aus der Beobachtung, daß das Serumbilirubin durch die Phototherapie niemals auf ein normales Niveau reduziert werden kann und die maximale Bilirubinkonzentration in der Galle knapp unter der minimal im Serum erreichbaren liegt, wurde gefolgert, die Lichtbehandlung mache die kanalikulären Membrane der Hepatozyten frei permeabel für eine passive Diffusion unkonjugierten Bilirubins vom Blut zur Galle (OSTROW (59)). Diese Annahme erklärt die im Vergleich zu den Kontrolltieren geringere oder gar fehlende Beeinflussung des Bilirubinspiegels sulfonamidbehandelter Tiere durch Bestrahlung: Bei den Kontrolltieren mit ihren hohen Bilirubinwerten besteht ein großer Konzentrationsgradient zwischen Blut und Galle. Daher kann unter der Einwirkung der Phototherapie eine erhebliche Menge in die Galle diffundieren und somit eine relativ starke Senkung des Spiegels von etwa 40 % erfolgen (Abb. 8). Wahrscheinlich befindet sich die Clearance bereits nach 24 Stunden im Gleichgewicht. Dies kann man aus der hypothetischen Kurve ersehen, die gewonnen wurde, indem von der Kurve der bestrahlten Ratten die Abweichung der unbestrahlten vom Ausgangswert (100 %) subtrahiert wurde. Die Abweichung ist auf stressbedingte Exsikkose und Hämokonzentration zurückzuführen, die sicher auch für die bestrahlten Tiere anzunehmen sind. Somit würde sich der Bilirubinabfall bestrahlter Tiere nach Ablauf von 24 Stunden nur durch eine die anfängliche Hämokonzentration ausgleichende Hämodilution ergeben.

Die Serumbilirubinkonzentration der mit Durenat^R oder Gantrisin^R behandelten Ratten ist aufgrund der Verdrängung des Pigmentes ins Fettgewebe bereits so stark gesunken, daß der Gradient zwischen Blut und Galle klein ist und die Phototherapie keine so starke Wirkung mehr zeigt (bei bestrahlten Tieren wird nach 24 Stunden eine 7 bis 20 % niedrigere Serumkonzentration gefunden als bei nicht bestrahlten) (Abb. 9). Der 48-Stundenwert der mit 1 000 mg/kg Körpergewicht Gantrisin^R behandelten bestrahlten Ratten liegt wohl oberhalb des entsprechenden Wertes der Kontrolltiere, weil aufgrund einer Laktationsschwäche der Mutter Exsikkose und Hämokonzentration aufgetreten sein dürften.

Durch Madribon^R läßt sich selbst mit relativ kleinen Medikamentenkonzentrationen eine maximale, durch Dosissteigerung nicht zu beeinflussende Bilirubinsenkung auf etwa 15 - 18 % des Ausgangswertes erreichen (Abb. 10). Lediglich bei einer Dosis von 50 mg/kg ist die verdrängende Wirkung nach 24 Stunden merklich abgeklungen, so daß eine Bestrahlung den Bilirubinspiegel deutlich senkt. Der Wiederanstieg des Bilirubins unbestrahlter Tiere, die 100, 200 oder 300 mg/kg erhalten haben, ist nach 24 Stunden nur gering. Entsprechend klein ist der Bestrahlungserfolg, der diesen gerade wettmacht. Wir dürfen für den Fall der maximalen Bilirubinverdrängung durch Madribon^R annehmen, daß sich ein Gleichgewicht zwischen Blut und Galle einstellt und die Phototherapie den Serumspiegel über eine Permeabilitätssteigerung der Hepatozytenmembrane nicht zu beeinflussen vermag.

Dennoch beschleunigt die Bestrahlung auch unter diesen Bedingungen die Bilirubinclearance ganz erheblich, was man an dem sehr viel geringer tingierten Fettgewebe und der beträchtlich reduzierten Absterberate lichtexponierter Tiere erkennt. Die Wirkung dürfte hier vorwiegend auf dem oxydativen Photokatabolismus des Pigmentes zu polaren, wasserlöslichen Bilirubinderivaten beruhen, die ohne Konjugation schnell und quantitativ mit der Galle ausgeschieden werden (58, 59, 60). Diese Produkte werden in geringem Umfang auch bei unbestrahlten Gunn-Ratten gefunden und unterscheiden sich von solchen, die während der

Photodekomposition des Bilirubins in vitro entstehen. Auch Dipyrrole, die den größten Teil der Photoprodukte bei der Hyperbilirubinämie des Menschen ausmachen sollen, werden bei Gunn-Ratten - allerdings nur in kleiner Konzentration - im Urin und in der Galle gefunden (OSTROW (59)). Es muß also betont werden, daß die Phototherapie auch dann sehr wirksam ist, wenn sie den durch Applikation stark verdrängender Sulfonamide erheblich gesenkten Serumbilirubinspiegel nicht oder kaum zu beeinflussen vermag. Die Überlebensraten und die Ergebnisse der Sektionen und histologischen Untersuchungen unterstreichen diesen Sachverhalt. Da die Haut fast aller bestrahlten Tiere im Gegensatz zu unbestrahlten Ratten eine helle Färbung aufweist, ist es wahrscheinlich, daß die Photooxydation ganz überwiegend am in die Epidermis diffundierten Bilirubin vonstattengeht. Denn wenn der Oxydationsprozeß intravasal geschähe, könnte sicherlich keine starke Diskrepanz zwischen der Gelbfärbung von Haut und übrigem Fettgewebe und vor allem zwischen lichtexponierten und mehr lichtgeschützten Hautpartien bestehen.

Offenbar werden durch die Sulfonamide sehr große Bilirubinsmengen mobilisiert, denn das Fettgewebe unbestrahlter Ratten ist im Unterschied zu dem der Kontrolltiere recht massiv gelb. Die intensive Färbung der mit Madribon^R behandelten Ratten korrespondiert mit der durch die starke Eiweißbindung der Droge hervorgerufenen massiven und andauernden Bilirubinverdrängung. Auffällig war, daß durch das den Bilirubinspiegel relativ wenig senkende Durenat^R eine stärkere Tingierung des Fettgewebes bewirkt wurde als durch das Gantrisin^R. Dem entspricht auch eine hohe Absterberate der mit Durenat^R behandelten Tiere (Tab. 1 und Abb. 9). Der Grund dürfte in der protrahierten Wirkung des Durenat^R zu suchen sein. Bei den bestrahlten Ratten sahen wir nach Gantrisin^R niemals, nach Madribon^R und Durenat^R nur gelegentlich eine leichte Gelbfärbung des Fettgewebes. Die Häufigkeit von Kernikterus oder diffuser Gelbfärbung des ZNS entspricht innerhalb der einzelnen Behandlungsgruppen grundsätzlich der des

Fettgewebes, ist jedoch insgesamt seltener. Man kann dies vielleicht als Hinweis auf das Vorhandensein der umstrittenen "Blut-Hirnschranke" werten. Zusammenfassend läßt sich sagen, daß eine enge Korrelation zwischen Häufigkeit und Intensität der Bilirubindurchtränkung des Fettgewebes, Kernikterusrate und Absterberate besteht.

Die unterschiedliche Färbung der Därme oestrahelter und unbestrahlter Tiere ist in etwas vereinfachter Form in Tab. 6 verzeichnet.

Tabelle 6

Färbung der Därme homozygoter Gunn-Ratten

	DUNKEL	BESTRAHLT	
		proximal	distal
Kontrolltiere	hellgelb oder ocker	weiß	ocker
MADRIBON ^R	(meist intensiv) gelb	weiß	ocker
GANTRISIN ^R	gelb	weiß	ocker
DURENAT ^R	dunkelgelb oder orange	weiß	ocker

Der Darminhalt von sulfonamidbehandelten Ratten und von Kontrolltieren ist nach Lichtexposition proximal durch Milch weiß, distal ockerfarbig. Er enthält also nicht sehr große Mengen gelben Pigmentes. Daher ist anzunehmen, daß die Lichtwirkung weniger darauf beruht, die hepatozytären Membrane für unkonjugiertes Bilirubin permeabel zu machen, als den Farbstoff zu oxydieren. Nach Untersuchungen von OSTROW und BRANHAM (61) sowie OSTROW (58) sind die in die Galle ausgeschiedenen Photokataboliten des Bilirubins bei Gunn-Ratten weniger intensiv gefärbt als das native Pigment, und zum Teil auch farblos. Ferner wird unter der Phototherapie ein größerer Anteil des Pigmentes mit dem Urin eliminiert. Faßt man die Ockerfarbe als ein Gemisch aus dem Weiß der Milch sowie braunen und grünen Komponenten auf, so besteht eine gewisse Überein-

stimmung zwischen unseren Befunden und denen von HODGMAN und SCHWARZ (33), LUCEY (45) und PORTO (64), die eine charakteristische grüne oder braune Färbung der Stühle bestrahlter Kinder beschreiben. Da auch die Hälfte der im Dunkeln gehaltenen Kontrolltiere ockerfarbene Stühle aufweist, ist anzunehmen, daß bei den jungen Gunn-Ratten bereits eine intestinale Bakterienflora vorhanden ist, die einen Teil des Pigmentes im Darm reduziert.

Der Darminhalt unbestrahlter mit Sulfonamiden behandelter Ratten ist gelb oder bei Tieren mit besonders intensiver Fettgewebefärbung orange, weil das in großer Menge anfallende Bilirubin in unveränderter Form vorliegen dürfte. Es ist unklar, auf welchem Wege die beträchtlichen Quantitäten des Pigmentes in den Darm gelangen. Möglicherweise wird der Farbstoff unter dem Einfluß der Drogen von der Darmschleimhaut in das Lumen sezerniert. Ein solcher Prozeß ist von Neugeborenen mit Gallengangsatresie und hochgradiger Hyperbilirubinämie bekannt (SCHAFFER, MARKOWITZ und FINBERG (65)). Denkbar ist auch eine Stimulation der Cholerese oder eines alternativen Stoffwechselweges des Bilirubins, der normalerweise bei Menschen und Tieren mit ⁺Bilirubinkonjugationsfähigkeit besteht. Letzterer Vorgang gilt unter der Einwirkung von Licht als erwiesen (OSTROW und BERRY (60), SCHMID und HAMMAKER (70)). Ferner ist die Aktivierung eines Stoffwechselschrittes zur Elimination unkonjugierten Bilirubins zu erwägen, der von LESTER und SCHMID (44) bei Amphibien nachgewiesen wurde. Eine Induktion der Glukuronyltransferase ist wegen des genetischen Schadens der Gunn-Ratten unwahrscheinlich. Sicherlich beruht die gelbe Färbung der Därme unbestrahlter, mit Sulfonamiden behandelter Tiere zum Teil auch auf einer Bilirubinimbitton der Darmwand selbst, denn es besteht eine gute Übereinstimmung der Intensität von Fettgewebs- und Darmfärbung. BLANC und JOHNSON (14) beschreiben ebenfalls nach Gabe von Madribon^R eine gelbe Tingierung der Darmwand, die nach Untersuchungen von JOHNSON et al. (36) auf eine Ablagerung kristalliner und amorpher bilirubinähnlicher Substanzen in der Lamina propria mucosae zurückzuführen ist.

+) eingeschränkter

Die Tatsache, daß bei bestrahlten Ratten gewöhnlich nur eine geringe Gelbfärbung der Gewebe und insbesondere lediglich einmal ein Kernikterus gefunden wurde, beweist nicht nur den bereits in einer Vielzahl von Arbeiten beschriebenen Schutz neugeborener Menschen und Gunn-Ratten vor den Folgen einer Hyperbilirubinämie durch die Phototherapie, sondern auch die Wirksamkeit dieser Benaunungsmethode bei Anwendung stark eiweißgebundener Medikamente, die geeignet sind, einen Kernikterus zu provozieren.

Die in Tab. 5 verzeichneten Daten der enzymhistochemischen Purkinjezelluntersuchung von Tieren, die mit Madribon^R behandelt und unmittelbar nach den Bestrahlungsversuchen getötet wurden, illustrieren diesen Sachverhalt, zeigen jedoch gleichzeitig, daß mikroskopisch gelegentlich auch bei bestrahlten Ratten eine Verringerung der Purkinjezellpopulation vorhanden sein kann, obwohl makroskopisch kein Kernikterus gefunden wird. Diese Schäden sind möglicherweise schon vor Versuchsbeginn eingetreten. Die Gründe der stark verringerten Kernikterus- und Absterberaten sowie der besseren Gewichtsentwicklung bestrahlter Tiere sind neben der beschleunigten Bilirubinelimination auch in der fehlenden Neurotoxizität der Photodegradationsprodukte zu suchen. SILBERBERG et al. (74) haben die Unschädlichkeit der Abbauprodukte aufgrund von Untersuchungen an myelinbildenden Kleinhirnkulturen vermutet. DAY (21) und BROUGHTON et al. (17) konnten das tierexperimentell erhärten. Schließlich gelangen die Zerfallprodukte wegen ihrer raschen Elimination ohnehin nur in geringer Konzentration ins Hirn (DIAMOND und SCHMID (22)).

Anzeichen einer photodynamisch bewirkten Hämolyse lassen sich anhand der Hämatokritwerte bestrahlter Tiere nicht feststellen. Daher scheint die von KOPELMAN und Mitarbeitern (40, 41) aufgrund der Beobachtungen beim "Bronzebabysyndrom" geäußerte Befürchtung, die Phototherapie führe durch photodynamische Reaktionen an der Erythrozytenmembran zur Hämolyse, zumindest für unsere Versuchs-

anordnung nicht gerechtfertigt. Weil sich der Hämatokritabfall des von den genannten Autoren beobachteten Kindes noch Wochen nach der Lichtbehandlung verstärkte, erscheinen überdies weitere pathogenetische Mechanismen bedeutsam. Allerdings lagen in dem Falle besondere Verhältnisse vor: die Photooxydationsprodukte wurden wegen einer Cholostase verzögert ausgeschieden, was wohl auch die bronzene Hautverfärbung bewirkte. Die Beobachtungen der Arbeitsgruppe KOPELMANs (56), daß die Erythrozyten des "Bronzebabys" in vitro in Gegenwart von Bilirubin und Sauerstoff lysierten, haben sicherlich für die Verhältnisse in vivo nur eine untergeordnete Bedeutung. Der energiereiche blaue Anteil des sichtbaren Lichtes dringt bei senkrechtem Einfall ja nur etwa 0,2 mm in die menschliche Haut (SPIER (79)) und erreicht die Erythrozyten - wenn überhaupt - nur in oberen Anteilen der Kapillarschlingen. Das gleiche gilt für die Versuche von BLACKBURN und Mitarbeitern (11, 12), die ebenfalls in vitro unter Lichteinwirkung eine mit Erythrozytenschwellung, Kaliumverlust und Abfall des erythrozytären reduzierten Glutathions verbundene Hämolyse feststellten, welche sich in Gegenwart von Bilirubin signifikant verstärkte. In vivo aber konnten die Autoren wie wir nach Bestrahlung keine Hämolyse feststellen (13). Daß lichtexponierte Gunn-Ratten, die keine Medikamente erhalten haben, eher etwas höhere Hämatokritwerte aufweisen als unbestrahlte, wurde auch von HELLER (31) beobachtet und als Hämokonzentration gedeutet. In unseren Untersuchungen sind die Differenzen sehr gering und statistisch nicht signifikant. Auch die mit Durenat^R oder Gantrisin^R behandelten Tiere haben bestrahlt einen etwas höheren Hämatokrit als unbestrahlt. Photodynamische Reaktionen, die von EPSTEIN und ROWE (23), BURCKHARDT und SCHMID (18) sowie von TRONNIER (85) nach Gabe von Sulfonamiden beschrieben wurden, können durch diese Medikamente zumindest an der Erythrozytenmembran kaum aufgetreten sein. Nach Behandlung mit Madribon^R weisen bestrahlte Ratten allerdings keinen eindeutig höheren Hämatokritwert auf als unbestrahlte.

Die Tatsache, daß der Hämatokrit bei den sulfonamidbehandelten Tieren sowohl im Dunkeln als nach Bestrahlung niedriger liegt als bei Kontrollratten, und zudem nach Gabe von Gantrisin^R mit zunehmender

Dosis eine Tendenz zu niedrigeren Hämatokritwerten besteht, führt zur Vermutung einer schädigenden Wirkung der Sulfonamide auf die Integrität der Erythrozyten. Wahrscheinlich liegt eine toxische Hämolyse vor (STACHER und GROHS (80)). Bezüglich des Hämatokritvergleichs zwischen lichtexponierten und im Dunkeln gehaltenen Tieren muß betont werden, daß die Unterschiede vergleichbarer Gruppen gewöhnlich nur klein und bei 14 Berechnungen lediglich zweimal signifikant sind. Zudem ist der Hämatokrit ein nicht sehr genauer Indikator einer etwa auftretenden Hämolyse. Ich habe deshalb versucht, diese anhand des beim Hämabbau entstehenden Kohlenmonoxyds nachzuweisen. Dieses Vorhaben ließ sich jedoch wegen der geringen zur Verfügung stehenden Blutmengen nicht realisieren. Die Gefahr der Provokation photodynamischer Reaktionen durch die Lichtbehandlung kann als sehr gering eingeschätzt werden, da selbst nach Verabreichung der als Photosensibilisatoren bekannten Sulfonamide weder eine lichtinduzierte Hämolyse, noch sonstige Zeichen photodynamischer Prozesse auftraten. Auch die wiederholt beschriebene Gefahr einer Wachstumsretardierung durch die Phototherapie trat bei unserer Versuchsanordnung nicht hervor. Bestrahlte sulfonamidbehandelte Tiere haben sich wesentlich besser entwickelt als unbestrahlte, weil der Grad des Kernikterus, der bekanntlich mit Saug- und Schluckstörungen einhergeht, durch das Licht erheblich verringert wurde. Auch bei den Kontrolltieren bestand eine allerdings schwache Tendenz zu größerem Gewichtszuwachs nach Lichtexposition. Die von mir verwendeten tiefblauen Spezial-Leuchtstofflampen führten zu einer rascheren und intensiveren Bilirubinelimination als es in früheren Versuchen in der hiesigen Klinderklinik möglich war (HELLER (31), BALLOWITZ (5)). Ein Kernikterus konnte jetzt bei den Kontrolltieren weitgehend vermieden werden. Dieser Vorteil überwog offensichtlich den Nachteil einer zu Beginn der Bestrahlung eintretenden Laktationsschwäche der Rattenmütter. Im Gegensatz zu den früheren Versuchen blieben die jeweiligen Rattenmütter bei meinen Ansätzen ständig bei denselben Jungen entweder im Dunkeln oder im Licht (früher Wechsel der Mütter alle 24 Stunden). Die lichtinduzierte Laktations- und Saugschwäche milderte sich nach Gewöhnung an die Bestrahlung; sie wurde von dem besseren Allgemeinzustand der

Jungen aufgewogen. Spätschäden scheinen ebenfalls nicht aufzutreten, denn ein Jahr nach den Sulfonamidversuchen sind die Ratten unauffällig, und ihr Gewicht gleicht dem unbehandelter Tiere, wohingegen unbestrahlte mit Sulfonamiden behandelte Ratten immer noch erheblich in ihrer Gewichtsentwicklung zurückgeblieben sind.

Die vorliegende Arbeit unterstreicht die Bedeutung der Albuminbindung des Bilirubins bei Neugeborenen und die erhebliche Gefahr der Provokation eines Kernikterus, die von stark eiweißgebundenen Drogen ausgeht. Sie kann für den Menschen nicht geringer eingeschätzt werden als für die Versuchstiere, weil die Eiweißbindung der Medikamente beim Menschen meist am größten ist (WALTER und HEILMEYER (86)). Es wird weiter gezeigt, daß die Phototherapie hervorragend geeignet ist, die Risiken der Hyperbilirubinämie und Sulfonamidbehandlung zu mindern, ohne selbst durch photodynamische oder andere Prozesse schädigend zu sein. Die Untersuchungen können als Ermütigung zu einer liberalen Handhabung der Phototherapie als Behandlungsmethode der Hyperbilirubinämie Neugeborener gelten. Sie unterstreichen zugleich die Gefährlichkeit von Medikamenten, die mit dem Bilirubin um die Albuminbindung konkurrieren. Bei Kombinationen von Drogen muß mit einer Potenzierung der Bilirubinverdrängung durch Arzneimittelinteraktionen gerechnet werden (SCHIFF et al. (66)). Für alle in der Neugeborenenperiode benutzten Arzneimittel einschließlich der den Ampullen beigegeben Hilfsstoffe sollte dieses Verhalten bekannt sein.

IX. ZUSAMMENFASSUNG

Drei bis fünf Tage alte homozygote Gunn-Ratten, die wegen eines genetischen Schadens zeitlebens an einer Hyperbilirubinämie leiden, wurden mit verschiedenen Dosen der Sulfonamide Sulfadimethoxin (Madribon^R), Sulfamethoxydiazin (Durenat^R) oder Sulfisoxazol (Gantrisin^R) behandelt und für mehrere Tage in Gegenwart ihrer Mütter mit Blaulicht bestrahlt oder im Dunkeln gehalten. Die Medikamente senkten die Serumbilirubinkonzentration entsprechend ihrer Eiweißbindung und der Dosierung innerhalb von 30 Minuten um 27 - 66 %. Die niedrigsten Werte wurden bei allen untersuchten Drogen nach 3 Stunden erreicht. Eine Konzentration von weniger als 15 % der anfänglichen ließ sich auch durch extrem hohe Dosen nicht erzielen. Dieser minimale Wert änderte sich selbst durch Lichtexposition nicht.

Die Bestrahlung senkte den Bilirubinspiegel zusätzlich um so mehr, je weniger dieser bereits durch Medikamente verringert war. So wurde die Pigmentkonzentration der bestrahlten Kontrolltiere, die keine Drogen erhalten hatten, innerhalb von 24 Stunden um gut 30 % und innerhalb von 48 Stunden um fast 45 % gesenkt.

Die Absterberaten der Ratten steigerten sich mit der Intensität und der Dauer der medikamentenbedingten Verringerung des Serumbilirubins durch Verdrängung aus dem Plasma erheblich. Durch Blaulichtbehandlung ließ sich die erhöhte Letalität zurückdrängen - auch dann, wenn der durch die Sulfonamide bereits maximal gesenkte Bilirubinspiegel kaum beeinflussbar war. Die Überlebensraten aller sulfonamidbehandelten Tiere betrugen nach 4 Tagen 32,6 % bei Haltung im Dunkeln und 88,7 % bei Blaulichtexposition.

Die Sulfonamide riefen vermutlich über einen Kernikterus mit Saugstörung eine Wachstumsretardierung hervor, welche durch Lichtbehandlung stark abgeschwächt wurde, so daß in den meisten Versuchsgruppen eine signifikante Gewichtsdivergenz zwischen bestrahlten und unbe-

strahlten Ratten bestand. Auch ein Jahr nach den Versuchen lag das mittlere Körpergewicht lichtexponierter Tiere mit 343,6 g wesentlich über dem der im Dunkeln gehaltenen von 285,4 g und ist dem Gewicht von Ratten vergleichbar, die ohne Belastung durch Medikamente unter konventionellen Bedingungen aufwachsen.

Eine Bilirubindurchfränkung der Haut und des Fettgewebes war nach der Medikamentengabe bei allen unbestrahlten Tieren vorhanden und korrelierte mit der Dosis und der Eiweißbindung der injizierten Präparate oder anders ausgedrückt der Dauer und Intensität der durch sie bewirkten Senkung des Serumbilirubins. Bei bestrahlten Ratten hingegen wurde lediglich in 3 von 30 Untersuchungen eine Gelbfärbung der Haut und des Fettgewebes gefunden. In 31 von 37 Fällen wiesen unbestrahlte sulfonamidbehandelte Tiere autoptisch deutliche Bilirubinablagerungen im ZNS auf, während nach Bestrahlung nur eine von 43 Ratten einen Kernikterus hatte (nach wiederholter Gabe von 300 mg/kg Madribon^R). Die enzym-histochemischen Untersuchungen der Purkinjezellpopulation des Kleinhirns zeigten ebenfalls erhebliche Unterschiede zwischen beiden Behandlungsgruppen.

Anzeichen photodynamischer Reaktionen durch die Lichtbehandlung wurden nicht festgestellt. Auch bewirkte die Phototherapie keine Hämolyse, doch führten die Sulfonamide unabhängig von der Haltung der Ratten im Licht oder im Dunkeln zu einem leichten Sinken des Hämatokrit, das vermutlich auf einer toxischen Hämolyse beruht.

Die Ursache der durch Sulfonamide bewirkten hohen Absterberate, Kernikterusinzidenz, retardierten Gewichtsentwicklung und der Pigmentablagerung im Gewebe unbestrahlter Tiere ist in der hochgradigen und im Vergleich zum Bilirubin sehr festen Albuminbindung der untersuchten Drogen zu sehen. Sie führt zu einer Verdrängung des Bilirubins aus der Eiweißbindung und nachfolgender Diffusion des neurotoxischen Pigmentes in extravasale Kompartimente, u. a. in umschriebene Hirnareale. Der phototherapeutische Schutz vor

den deletären Wirkungen einer medikamentösen Bilirubinverdrängung und einer Hyperbilirubinämie schlechthin wird einerseits durch die Photooxydation des Pigmentes zu atoxischen, wasserlöslichen Derivaten bewirkt, andererseits durch eine vermehrte Exkretion aufgrund einer Permeabilitätssteigerung der hepatozytären Membrane für lipoidlösliches, ungebundenes, unkonjugiertes Bilirubin. Der erstgenannte Prozeß scheint - jedenfalls in der vorliegenden Versuchsanordnung - quantitativ zu überwiegen; denn die Phototherapie ist auch dann sehr gut geeignet die Kernikterus- und Absterberaten zu verringern, wenn nach maximaler medikamentöser Serumbilirubinverdrängung ein Konzentrationsausgleich zwischen Blut und Galle anzunehmen ist. In dem Fall wird eine Permeabilitätssteigerung wegen des fehlenden Gradienten unwirksam. Diese Hypothese wird durch die Tatsache gestützt, daß nach der Medikamenteninjektion im Darm bestrahlter Tiere relativ wenig gelbes Pigment gefunden wird.

X. LITERATURVERZEICHNIS

- 1 ARIAS, I. M.: Ethereal and N-linked glucuronide formation by normal and Gunn rats in vitro and in vivo.
Biophys. Res. commun. 6: 81-84, 1961.
- 2 ARIAS, I. M.: The pathogenesis of "physiologic" jaundice of the newborn: a reevaluation.
In: Bergsma, D., Hsia, D. Y. Y. und Jackson, C., ed.: Bilirubin Metabolism in the Newborn. New York, National Foundation for Birth Defects. Original Article Series 6: 106 - 113, 1970.
- 3 ASCHOFF, J.: pers. Mitt.
- 4 BALLABRIGA, A. u. GALLART-CATALA, A.: Blue light for jaundice in infants.
Lancet 1: 751, 1968.
- 5 BALLOWITZ, L.: Effects of blue and white light on infant (Gunn) rats and lactating mother rats.
Biol. Neonate 19: 409 - 425, 1971.
- 6 BALLOWITZ, L.; HELLER, R.; NATZSCHKA, J. und OTT, M.:
The effect of blue light on infant Gunn rats.
Birth defects. Original Article Series 6: 106 - 113, 1970.
- 7 BARAC, G.: Interaktions of bilirubin with plasma proteins, and the state of bilirubin in normal human plasma.
Arch. int. Physiol. 61: 129, 1953.
- 8 BARROW, G.: Physikalische Chemie.
Bohmann-Verlag, Heidelberg, Wien; Friedrich Vieweg & Sohn, Braunschweig: 307-312, 1973.
- 9 BEREZIN, A.: Avao "in vitro" das vitaminas hidrossolúveis e da luz fluorescente sobre os níveis de bilirrubina. Resultados do tratamento da hiperbilirrubinemia do recém-nascido pelo ácido tiocaprílico, superiluminavao, vitamina C, complexo B e vitamina C mais complexo B.
Matern. Infanc. 19: 169 - 204, 1960.

- 10 BEREZIN, A. u. CAPOZZI, A.: Estudo comparativo dos resultados do tratamento da hiperbilirrubinemia do recém-nascido com a luz fluorescente em relação com um grupo controle sem tratamento.
Matern. Infanc. 22: 529 - 538, 1963.
- 11 BLACKBURN, M.G. u. ORZALESI, M.M.: Effect of light on fetal red blood cells in vitro.
Proc. XIII Internat. Congr. of Pediatr. Wien 1971, Vol. I, 381 - 386.
- 12 BLACKBURN, M.G., ORZALESI, M.M. u. PIGRAM, P.:
Effect of light and bilirubin on fetal red blood cells in vitro.
Biol. Neonate 21: 35 - 43, 1972.
- 13 BLACKBURN, M.G., ORZALESI, M.M. u. PIGRAM, P.: Effect of light on fetal red blood cells in vivo.
J. Pediat. 80: 640 - 643, 1972.
- 14 BLANC, W.A. u. JOHNSON, L.: Studies on kernicterus.
J. Neuropath. Exper. Neurol. 18: 165 - 187, 1959.
- 15 BLONDHEIM, S.H., LATHROP, D. u. ZABRISKIE, J.: Effect of light on the absorption spectrum of jaundiced serum.
J. Lab. Clin. Med. 60: 31 - 39, 1962.
- 16 BOGGS, F.R., HARDY, J.B. u. FRAZIER, T.M.: Correlation of neonatal serum total bilirubin concentrations and developmental status at age eight months.
J. Pediat. 71: 5531, 1967.
- 17 BROUGHTON, P.M.G., ROSSITER, E.J.R., WARREN, C.B.M., GOULIS, G. u. LORD, P.S.: Effect of blue light on hyperbilirubinaemia.
Arch. Dis. Childh. 40: 666 - 672, 1965.
- 18 BURCKHARDT, W. u. SCHMID, P.: Das Licht als pathogene Noxe.
Schweiz. med. Wschr. 99: 439 - 444, 1969.

- 19 CARBONE, J.V. u. GRODSKY, G.M.: Constitutional nonhemo-
lytic hyperbilirubinemia in the rat: Defect of bilirubin
conjugation.
Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 94: 461 - 465, 1957.
- 20 CREMER, R.C., PERRYMAN, P.W. u. RICHARDS, D.H.: Influence
of light on the hyperbilirubinaemia of infants.
Lancet 1: 1094 - 1097, 1958.
- 21 DAY, R.L.: Inhibition of brain respiration in vitro by
bilirubin. Reversal of inhibition by various means.
Proc. Soc. Exper. Biol. (N. Y.) 85: 261, 1954.
- 22 DIAMOND, I. u. SCHMID, R.: Neonatal hyperbilirubinemia and
kernicterus. Experimental support for treatment
by exposure to visible light.
Arch. Neurol. 18: 699 - 702, 1968.
- 23 EPSTEIN, S. u. ROWE, R.W.: Photoallergy and photocross-
sensitivity to phenergan.
J. Invest. Derm. 29: 319 - 326, 1957.
- 24 FERREIRA, H.C., CARDIM, W.H. u. MELLONE, O.: Phototherapie.
Eine neue Behandlungsweise der Hyperbilirubinämie des
Neugeborenen.
J. Pediat. (Rio): 347 - 391, Sept. 1960.
- 25 FRANKLIN, A.W.: Influence of light on the hyperbilirubin-
aemia of infants.
Lancet 1: 1227, 1958.
- 26 GOODMAN, J.R. u. THALER, M.M.: Changes in liver during
phototherapy.
Clin. Res. 21: 319, 1973.
- 27 GUINTA, F. u. RATH, J.: Effect of environmental illumination
in prevention of hyperbilirubinaemia of prematurity.
Pediatrics 44: 162 - 167, 1969.
- 28 GUNN, C.H.: Hereditary acholuric jaundice in new mutant
strain of rats.
J. Hered. 29: 137 - 140, 1938.

- 29 HAMPEL, C.: Die Wirkung verschiedener Leuchtstofflampen auf das Serumbilirubin in vivo und in vitro.
Inaug. Diss. FU Berlin, 1975.
- 30 HANEFELD, F. u. NATZSCHKA, J.: Histochemical studies in infant Gunn rats with kernicterus.
Neuropäditrie 4: 428 - 438, 1971.
- 31 HELLER, R.: Einfluß der Bestrahlung mit blauem Licht auf neugeborene Gunn-Ratten.
Inaug. Diss. FU Berlin 1972.
- 32 HENGLEIN, A., SCHNABEL, W. u. WENDENBURG, J.: Einführung in die Strahlenchemie.
Verlag Chemie, Weinheim/ Bergstr. 1969.
- 33 HOGDMAN, J.E. u. SCHWARTZ, A.: Phototherapy and hyperbilirubinemia of the premature.
Amer. J. Dis. Child 119: 473, 1970.
- 34 HOLLEMAN-WIBERG: Lehrbuch der anorganischen Chemie.
Walter de Gruyter & Co., Berlin: 229 - 231, 1971.
- 35 JOHNSON, L., GARCIA, M.L., FIGUEROA, E. u. SARMIENTO, F.: Kernikterus in rats lacking glucuronyl transferase.
Amer. J. Dis. Child 101: 322 - 349, 1961.
- 36 JOHNSON, L., SARMIENTO, F., BLANC, W.A. u. DAY, R.: Kernikterus in rats with an inherited deficiency of glucuronyl transferase.
Amer. J. Dis. Child 97: 591 - 608, 1959.
- 37 JOHNSON, L. u. SCHUTTA, H.S.: Quantitative assessment of the effects of light treatment in infant Gunn rats.
Birth defects. Original Article Series 6: 114 - 118, 1970.
- 38 JOSEPHSON, B. u. FURST, P.: Sulfonamides competing with bilirubin for conjugation to albumin.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 18: 51 - 63, 1966.
- 39 KLOTZ, I.M., TRIWUSCH, H. u. WALKER, F.M.: The protein binding of organic ions by proteins. Competition phenomena and denaturation effects.
J. Amer. Chem. Soc. 70: 2935, 1948.

- 40 KOPELMAN, A.E., BROWN, R.S. u. ODELL, G.B.: The "bronze baby", a complication of phototherapy.
Ped. Res. : 642 - 644, 1971.
- 41 KOPELMANN, A.E., BROWN, R.S. u. ODELL, G.B.: The "bronze" baby syndrome: A complication of phototherapy.
- 42 KRIEGLSTEIN, J.: Pers. Mitt.
- 43 LEONHARDT, H.: Histologie und Zytologie des Menschen.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart: 272 - 274, 1971.
- 44 LESTER, R. u. SCHMID, R.: Bile pigment excretion in amphibia.
Nature 190:452, 1961.
- 45 LUCEY, J.F.: Phototherapy of jaundice 1969.
Birth defects. Original Article Series 6: 63 -70, 1970.
- 46 LUCEY, J.F.: The effects of light on the newly born infant.
J. Perinat. Med. 1: 147 - 152, 1973.
- 47 LUCEY, J., FERREIRO, M. u. HEWITT, J.: Prevention of hyperbilirubinemia of prematurity by phototherapy.
Pediatrics 41: 1047 - 1054, 1968.
- 48 MALAKA-ZAFIRIU, K. u. STRATES, B.S.: The effect of anti-microbial agents on the binding of bilirubin by albumin.
Acta Paediat. Scand. 58: 281 - 286, 1969.
- 49 MARTIN, N.H.: Preparation and properties of serum and plasma proteins. XXI. Interactions with bilirubin.
J. Amer. Chem. Soc. 71: 1230, 1949.
- 50 NATZSCHKA, J., GROTH, D. u. BALLOWITZ, L.: Verhütung eines Kernikterus durch Prednisolon bei jungen Gunn-Ratten.
Dtsch. Med. Wschr. 13: 443 - 445, 1968.
- 51 NULTSCH, W.: Allgemeine Botanik.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart: 325 - 328, 1968.
- 52 ODELL, G.B.: Protein binding of bilirubin and its possible relationship to kernicterus.
A.M.A.J. Dis. Child. 98: 624, 1959

- 53 ODELL, G.B.: The dissotiation of bilirubin from albumin
and its clinical implications.
J. Pediat. 55: 268, 1959.
- 54 ODELL, G.B.: Studies in kernicterus. I. The protein
binding of bilirubin.
J. Clin. Invest. 38: 823 - 833, 1959.
- 55 ODELL, G.B., BROWN, R.S. u. HOLTZMAN, N.A.: Dye-sensitized
photooxidation of albumin associated with a decreased
capacity for protein-binding of bilirubin.
Birth defects. Original Article Series 6: 31 - 36, 1970.
- 56 ODELL, G.B., BROWN, R.S. u. KOPELMAN, A.E.: The photo-
dynamic action of bilirubin on erythrocytes.
J. Pediatr. 81: 473 - 483, 1972.
- 57 OH, W. u. KARECKI, H.: Phototherapy and insensible water
loss in the newborn infant.
Amer. J. Dis. Child. 124: 230, 1972.
- 58 OSTROW, J.D.: Mechanisms of bilirubin photodegradation.
Seminars in Hematology 9: 113 - 125, 1972.
- 59 OSTROW, J.D.: Photocatabolism of labeled bilirubin in
the congenitally jaundiced (Gunn) rat.
J. Clin. Invest. 50: 707 - 718, 1971.
- 60 OSTROW, J.D. u. BERRY, C.S.: Excretion of exogenous and
endogenous bile pigments after intravenous administration
of bilirubin photoderivatives to Gunn rats.
Gastroenterology 64: 152, 1973.
- 61 OSTROW, J.D. u. BRANHAM, R.V.: Photodecay of bilirubin in
vitro and in the jaundiced (Gunn) rat.
Birth defects. Original Article Series 6: 93, 1970.
- 62 OSTROW, J.D. u. BRANHAM, R.V.: Photodecomposition of
bilirubin and biliverdin in vitro.
Gastroenterology 58: 15, 1970.
- 63 POLAND, R.L. u. ODELL, G.B.: Physiologic jaundice: The
enterohepatic circulation of bilirubin.
New Engl. J. Med. 284: 1 - 6, 1971.

- 64 PORTO, S.O.: In vitro and in vivo studies on the effect of phototherapy upon bilirubin.
Birth defects. Original Article Series 6: 83, 1970.
- 65 SCHAFFER, A.J., MARKOWITZ, M. u. FINBERG, L.: Diseases of the newborn.
W.B. Saunders Company, Philadelphia u. London, II. Ed. 1966
- 66 SCHIFF, D., CHAN, G. u. STERN, L.: Fixed drug combinations and the displacement of bilirubin from albumin.
Pediatrics 48: 139 - 141, 1971.
- 67 SCHMID, H.-J.: Der Einfluß von antibiotischen Präparaten und deren Lösungsvermittlern auf den Bilirubinspiegel der neugeborenen Gunn-Ratte mit und ohne Phototherapie.
Inaug. Diss. FU Berlin, in Vorbereitung.
- 68 SCHMID, R.: Bilirubin metabolism in the newborn.
Birth defects. Original Article Series 6: 7 - 8, 1970.
- 69 SCHMID, R., AXELROD, J., HAMMAKER, L. u. SWARM, R.L.: Congenital jaundice in rats, due to a defect in glucuronide formation.
J. Clin. Invest. 37: 1123 - 1129, 1958.
- 70 SCHMID, R. u. HAMMAKER, L.: Metabolism and disposition of C¹⁴-bilirubin in congenital non-hemolytic jaundice.
J. Clin. Invest. 42: 1720, 1963.
- 71 SCHUTTA, H.S. u. JOHNSON, L.: Bilirubin encephalopathy in the Gunn rat: A fine structure study of the cerebellar cortex.
J. Neuropath. Exper. Neurol. 26: 377 - 396, 1967.
- 72 SCHUTTA, H.S. u. JOHNSON, L.: Clinical signs and morphologic abnormalities in Gunn rats treated with sulfadimethoxine.
Pediatrics 75: 1070 - 1079, 1969.
- 73 SCHUTTA, H.S., JOHNSON, L. und NEVILLE, H.E.: Mitochondrial abnormalities in bilirubin encephalopathy.
J. Neuropath. Exper. Neurol. 29: 296 - 305, 1970.
- 74 SILBERBERG, D., JOHNSON, L., SCHUTTA, H. u. RITTER, L.: Effects of photodegradation products of bilirubin on myelinating cerebellum cultures.
J. Pediat. 77: 613, 1970.

- 75 SILVERMAN, W.A.: The effects on premature infants of sulfisoxazole in the neonatal period.
In: SASS-KORTSAK, A.: Kernikterus. Univ. Toronto Press, Toronto 1961.
- 76 SILVERMAN, W.A., ANDERSEN, D.H., BLANC, U.A. u. CROZIER, D.N.: A difference in mortality rate and incidence of kernicterus among premature infants allotted to two prophylactic antibacterial regimens.
Pediatrics 18: 614 - 625, 1956.
- 77 SISSON, T.R.C., ADLER, M., SHAW, E. u. KOCHAVARZ, L.: The effect of visible light on the convulsive threshold of Gunn rats.
J. Pediat. 81: 35, 1972.
- 78 SISSON, T.R.C., KENDALL, N., DAVIES, R. u. BERGER, D.: Photobiologic aspects of hyperbilirubinemia.
Trans. Amer. Pediat. Soc. Atlantic City, N.J. 1969.
- 79 SPIER, H.W.: Pers. Mitt.
- 80 STACHER, A. u. GROHS, H.: Hämatopoetisches System.
In: KUEMMERLE, H.P. u. GOOSSENS, N.: Klinik und Therapie der Nebenwirkungen.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1973.
- 81 STAUDE, H.: Photochemie.
Bibliographisches Institut, Mannheim, 123, 1962.
- 82 STERN, L.: Drug interactions. II. Drugs, the newborn infant, and the binding of bilirubin to albumin.
Pediatrics 49: 916 - 918, 1972.
- 83 STERN, L. u. DORAY, B.H.: Kernicterus at relatively low bilirubin levels.
Proc. of 12th Int. Congress of Pediatrics, Mexico City, 1968.
- 84 TEBERG, A. u. HODGMAN, J.: Effect of phototherapy in low birth weight infants on growth and development at 2 years.
Clin. Res. 24: 224, 1971.

- 85 TRONNIER, H.: Photodynamische Arzneimittelnebenwirkungen.
Diagnostik 7: 174 - 179, 1974.
- 86 WALTER, A.M. u. HEILMEYER, L.: Antibiotika-Fibel.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 3. Aufl., 1969.
- 87 WINDORFER jun., A. u. MIHAILOVA, K.: Der Einfluß verschiedener Medikamente und pH-Werte auf die Albumin-Bilirubin-Bindung in vitro.
Z. Kinderheilk. 114: 83 - 92, 1973.
- 88 WINDORFER jun., A., MIHAILOVA, K. u. PRINGSHEIM, W.:
Besteht erhöhte Gefahr einer Bilirubinenzephalopathie im Neugeborenenalter durch eine medikamentöse Therapie?
Dtsch. Med. Wschr. 98: 1260 - 1267, 1973.
- 89 WURTMAN, R.J.: Effects of light on metabolic processes.
Birth defects. Original Article Series 6: 60 - 62, 1970.
- 90 YEARY, R.A.: Comparative toxicity studies on glucuronide-forming compounds in icteric and nonicteric newborn Gunn rats.
J. Pediat. 77: 139 - 142, 1970.
- 91 ZETTERSTRÖM, R. u. ERNSTER, L.: Bilirubin, an uncoupler of oxidative phosphorylation in isolated mitochondria.
Nature 178: 1335, 1956.
- 92 ZUELZER, W.W. u. MUDGETT, R.T.: Kernicterus; etiologic study based on analysis of 55 cases.
Pediatrics 6: 452, 1950.

Frau Professor Dr. L. Ballowitz möchte ich sehr herzlich für die Überlassung des Themas, die stets hilfsbereite Beratung bei der Durchführung der Versuche sowie die kritische Durchsicht der Arbeit danken.

Herrn Dr. F. Hanefeld, Kinderklinik der Freien Universität Berlin, danke ich für die Ausführung der enzymhistologischen Untersuchungen.

Zu großem Dank bin ich der medizinisch-technischen Assistentin Frau S. Wollermann für die freundliche Mitarbeit an den Tierexperimenten und bei der Anfertigung der Abbildungen verpflichtet.

Lebenslauf

Am 5. September 1946 wurde ich in Bremen geboren.
Dort besuchte ich die Grundschule an der Carl-Schurz-Straße
und dann das Gymnasium an der Hermann-Böse-Straße, an dem
ich im Februar 1966 die Reifeprüfung ablegte. Anschließend
begann ich in Mainz das Studium der Rechtswissenschaften.
Von Oktober 1966 bis März 1968 leistete ich in Hamburg den
Wehrdienst ab.

Das Studium der Medizin absolvierte ich an der Freien
Universität Berlin, wo ich 1969 die naturwissenschaftliche
Vorprüfung, 1970 die ärztliche Vorprüfung und am
27. Februar 1974 die ärztliche Prüfung bestand.

Als Medizinalassistent arbeitete ich bisher an der Inneren
Abteilung des Städt. Behring-Krankenhauses.

Ich beabsichtige, Facharzt für Kinderkrankheiten zu werden.

